

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos

ANA MERY DE OLIVEIRA CAMLOFSKI

AVALIAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS E CARACTERIZAÇÃO
DAS PECTINAS DO FRUTO DE *Physalis angulata* L.

Curitiba
2014

ANA MERY DE OLIVEIRA CAMLOFSKI

AVALIAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS E CARACTERIZAÇÃO
DAS PECTINAS DO FRUTO DE *Physalis angulata* L.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos do Setor de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Prof^a Dra. Rosemary Hoffmann Ribani.

Co-orientadora: Prof^a Dra. Carmen Lúcia de Oliveira Petkowicz.

Co-orientadora: Prof^a Dra. Trust Beta (University Manitoba)

Curitiba
2014

C183a

Camlofski, Ana Mery de Oliveira

Avaliação dos compostos bioativos e caracterização das pectinas do fruto de *Physalis angulata* L./ Ana Mery de Oliveira Camlofski. – Curitiba, 2014.
124 f. : il. color. ; 30 cm.

Tese - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos, 2014.

Orientador: Rosemary Hoffmann Ribani – Co-orientador: Carmen Lúcia de Oliveira Petkowicz – Co-orientador: Trust Beta.
Bibliografia: p. 115-123.

1. Biodiversidade - Brasil. 2. Antioxidantes. 3. *Physalis angulata* L. I. Universidade Federal do Paraná. II. Ribani, Rosemary Hoffmann. III. Petkowicz, Carmen Lúcia de Oliveira. IV. Beta, Trust. V. Título.

CDD: 583.952

ANA MERY DE OLIVEIRA CAMLOFSKI

**AVALIAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS E
CARACTERIZAÇÃO DAS PECTINAS DO FRUTO DE *Physalis
angulata* L.**

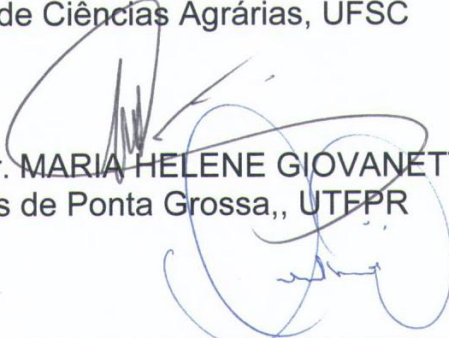
Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores:



Orientadora: Prof^a. Dr^a. ROSEMARY HOFFMANN RIBANI
Setor de Tecnologia, UFPR

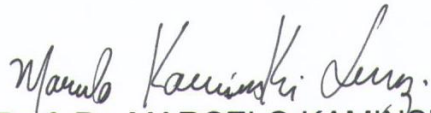


Prof^a. Dr^a. EDNA REGINA AMANTE
Centro de Ciências Agrárias, UFSC



Prof. Dr. MARIA HELENE GIOVANETTI CANTERI
Campus de Ponta Grossa,, UTFPR

Prof. Dr. CHARLES WINDSON ISIDORO HAMINIUK
Campus Curitiba - UTFPR



Prof. Dr. MARCELO KAMIŃSKI LENZI
Setor de Tecnologia, UFPR

Curitiba, 04 de dezembro de 2014.

Dedico
Á minha família e meus amigos, pois
sem eles a realização de mais este
sonho não seria possível!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pois, se hoje estou escrevendo estas linhas, é porque que Ele me deu forças para superar o problema pessoal que enfrentei no final do doutorado e conseguir concluir esta tese;

À minha querida orientadora, Prof^a Dr^a Rosemary Hoffmann Ribani, pelos ensinamentos, dedicação, paciência, incentivo, confiança, amizade. Pessoa honesta, justa que me ensinou a enfrentar as dificuldades da vida com serenidade. Exemplo para minha vida profissional e, sobretudo como ser humano;

À minha co-orientadora, Prof^a Dr^a Carmen L. O. Petkowicz, pela atenção, ensinamentos, suporte técnico, amizade e pela valiosa contribuição no desenvolvimento deste trabalho;

Aos Membros da banca de pré-defesa e defesa: Prof^a Dr^a Edna Regina Amante, Prof^a Dr^a Maria Helene Giovanetti Canteri, Prof. Dr. Marcelo Kaminski Lenzi, Prof. Dr. Charles W. I. Haminiuki, pelas contribuições valiosas que deram a este trabalho;

Agradeço a CAPES e ao PDSE (Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior), pelo suporte financeiro e pela oportunidade de realizar meu sonho de estudar fora do país através do doutorado-sanduíche no Canadá;

À minha orientadora na Universidade de Manitoba, Dr^a Trust Beta, pelos ensinamentos, amizade e por me fazer sentir parte do grupo de pesquisa desde que cheguei à universidade.

Agradeço ao *Food Science Department* e ao *Richardson Centre for Functional Foods and Nutraceuticals* pela disponibilidade em utilizar os laboratórios, os equipamentos e pela oportunidade. Ao técnico do *Food Science Department*, Babak Sobhi, que me ajudou na realização deste trabalho. Ao grupo de pesquisa: Victoria Ndolo, Lovemore Malunga, Kabo Masisi, Kuuku Biney, Carly Isaak, Lilei por me receberem bem no laboratório, sempre dispostos a me ajudar com meu inglês, com os equipamentos, análises, mais principalmente pela amizade construída nos seis meses em que morei no Canadá;

À Linda e Joel Bouchard, que me receberam de braços abertos no Canadá, com quem morei seis meses e que se tornaram parte da minha família. Muio obrigada por toda ajuda, paciência, viagens, passeios, e por me fazerem conhecer e gostar ainda mais do Canadá;

Ao meu *brother* Vinicius Izidio de Almeida e minha *sister* Ariane Nogueira Santos, pelo companheirismo, amizade, ajuda nos dias difíceis no Canadá, principalmente quando a saudade do Brasil batia á porta, pelos momentos de descontração. Pessoas maravilhosas que Deus colocou na minha vida. Vocês fizeram tudo se tornar mais fácil;

Á Lucélia Luna Melo-Diaz e Joshue Melo-Diaz, casal maravilhoso, obrigada pela amizade, pelo carinho, pelas aulas de inglês, pelos momentos felizes que passamos juntos em toda minha estada no Canadá. Obrigada por tudo;

Á minha querida amiga- agrônoma, Renata Bolzan, que me ajudou e me ensinou a plantar minhas frutinhas e quem sem ela esse trabalho não seria possível. Muito obrigada pela paciência, disponibilidade de seu tempo e pela sua amizade;

Aos técnicos de laboratório Marcelo Zadoreski, Ivan e Grazielli Rocha, pela paciência, colaboração com as análises de laboratório e principalmente pelos momentos de descontração nas horas em que nada parecia dar certo;

Obrigada a todos os meus amigos do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, em especial ao secretário Paulo Roberto Krainski, por toda ajuda e orientação dos documentos no processo PDSE, pela convivência, pelas conversas e pela amizade.

Às amigas do laboratório de Bioquímica Lúcia Vriesmann, Samantha Sharol, Marília Locatelli, Cristiane Colodel, Luana Melo, pela convivência, pelas conversas, pelas risadas, por toda amizade e companheirismo profissional;

Em especial às minhas amigas Andrea Pacheco, Aline Fracasso, Camila Perusselo, Gabrielli Oliveira, Paula Lustoza, Vanessa Scottini, Keli Dessordi, principalmente as “Curicas”: Carolina Leivas, Dayse Bartolomeu; Roberta de Souza Leone; Janaína Costa; Elaine Kiatkoski; Silvana Licodiedoff; Mariana Egea, que estiveram sempre ao meu lado, com uma palavra de esperança e incentivo, me dando forças para eu chegasse até aqui, principalmente no momento em que estava passando por um problema pessoal muito difícil;

Á minha mãe Silvia Meri de Oliveira, principal incentivadora para a realização desta tese, mulher maravilhosa que amo muito, obrigado pelo seu amor, carinho e apoio inestimáveis;

Ao meu irmão Cristian, minha cunhada Daniele, meus sobrinhos Lucas e Willian, minha irmã Karime, meu cunhado Expedito Damaceno, pelo amor, confiança, estímulo, carinho, meu porto seguro nos momentos mais difíceis;

A toda minha família, em especial minhas tias: Roseli, Liliana, Ana Clarice e minha madrinha Maria, pelo carinho, oração e pelo apoio na realização desta tese;

Agradeço ao imenso crescimento profissional e pessoal que estes quatro anos de doutorado me proporcionaram, fazendo com que a cada dificuldade enfrentada eu tivesse ainda mais certeza de que esse era meu caminho, o que me tornou uma pessoa mais forte e decidida.

Enfim, quero agradecer a todos aqueles, que de alguma forma, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização desta conquista.

Muito Obrigada por fazerem parte de minha vida!!!!!!!!!!!!!!

OLIVEIRA-CAMLOFSKI, A. M. Avaliação dos compostos bioativos e caracterização das pectinas do fruto de *Physalis angulata* L. 2014. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Programa de Pós Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

RESUMO GERAL

A biodiversidade é considerada uma forte estratégia para a manutenção da segurança alimentar, econômica e ecológica da humanidade. A flora brasileira constitui uma das maiores biodiversidades do planeta, elevando o Brasil ao posto de maior nação entre os dezessete países de maior biodiversidade possuindo milhares de espécies já catalogadas, dentre elas, muitas fruteiras silvestres. O gênero *Physalis* é uma frutífera silvestre, pertencente à família Solanaceae, ocorrendo em regiões temperadas, quentes e subtropicais, devido à sua adaptação a diferentes climas e tipos de solo. As espécies de ampla adaptação ecológica e comumente encontradas no Brasil são a *Physalis angulata* (*P. angulata*) e *Physalis peruviana* (*P. peruviana*), sendo o Rio Grande do Sul o principal produtor de *P. peruviana in natura*. Popularmente conhecido como camapu, é um fruto exótico, climatérico envolvido por um cálice que serve para protegê-lo de condições ambientais adversas e prolongar a vida útil do fruto. As espécies deste gênero apresentam uma longa lista de constituintes químicos, que tem despertado o interesse dos consumidores, tais como: compostos fenólicos, principalmente representados por ácidos fenólicos e flavonóides, ácidos graxos de cadeia linear, ácido ascórbico, carotenóides, alcalóides e vitaesteróides. Muitos dos fitoquímicos desse fruto podem ser responsáveis pela captura de radicais livres, atuando como antioxidantes sendo relacionados ao retardo do envelhecimento e prevenção de doenças degenerativas. Além do consumo *in natura*, os frutos são utilizados na produção de geléias caseiras, indicando a presença de pectinas. Neste contexto, o estudo dos compostos bioativos, a extração e caracterização dos polissacarídeos do fruto de *P. angulata* torna-se relevante, pois se trata de um fruto nativo e pouco explorado na área da Engenharia de Alimentos. Este trabalho foi dividido em quatro capítulos. A revisão bibliográfica no Capítulo 1 de forma concisa, aborda as características do gênero *Physalis*, a definição e a importância dos compostos bioativos e dos polissacarídeos em frutas e produtos alimentícios. No Capítulo 2 estão apresentados os perfis dos ácidos fenólicos solúveis e insolúveis presentes nos frutos de *P. angulata* obtidos por meio de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC); a atividade antioxidante dos extratos, determinada por meio da capacidade do extrato em sequestrar o radical livre (2,2-difenil-1-picrylhydrazil–DPPH); avaliação do conteúdo de compostos fenólicos totais dos frutos de *P. angulata* em dois estádios de maturação. O Capítulo 3 trata da caracterização dos subprodutos do fruto *P. angulata*: cálice, farinha e óleo das sementes dos frutos. A identificação do flavonol majoritário por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectroscopia de massa (HPLC/MS); avaliação do teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante determinada pelo método DPPH• nos cálices dos frutos de *P. angulata*. Na farinha das sementes do fruto foi realizada a determinação da composição físico-química, os minerais majoritários identificados por Espectrometria de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente (ICP-OES)- e o teor de compostos fenólicos totais (CFT) por Folin-Ciocalteu. No óleo extraído da farinha a identificação da composição de ácidos graxos foi determinada por ICP-OES e teor de fosfolipídeos calculado através teor de fósforo pelo fator de conversão. O Capítulo 4 descreve a caracterização físico-química dos frutos de *P. angulata*, a extração dos polissacarídeos e sua caracterização através da composição monossacarídica, análises de homogeneidade efetuadas em um cromatógrafo de exclusão estérica de alta pressão (HPSEC), o grau de esterificação das pectinas analisado por espectroscopia de infravermelho (FT-IR), análise de espectroscopia de ¹³C-RMN. As

propriedades reológicas foram avaliadas através de curvas de viscosidade aparente e análises oscilatórias dinâmicas.

OLIVEIRA-CAMLOFSKI, A.M. Evaluation of bioactive compounds and characterization of pectin from fruit *Physalis angulata* L. 2014. Thesis (PhD in Food Engineering) - Graduate Program in Food Engineering, Federal University of Paraná, Curitiba.

GENERAL ABSTRACT

Biodiversity is considered a powerful strategy for maintaining food safety. The flora is one of the greatest biodiversity on the planet, elevating Brazil to the greatest nation stand among the seventeen countries with the highest biodiversity possessing thousands of species already cataloged, among them many wild fruit trees. The genus *Physalis* is a wild fruit, belonging to the Solanaceae family, occurring in temperate, subtropical and warm regions, due to its adaptation to different climates and soil types. Species of wide ecological adaptation and commonly found in Brazil are the *Physalis angulata* and *Physalis peruviana*, and Rio Grande do Sul, the largest producer of fresh *P. peruviana*. Popularly known as camapum, is an exotic fruit, climacteric surrounded by a cup which serves to protect it from adverse environmental conditions and prolong the life of the fruit. The species of this genus have a long list of chemical constituents, which has aroused the interest of consumers, such as phenolic compounds, mainly composed of phenolic acids and flavonoids, fatty acids, straight-chain, ascorbic acid, carotenoids, alkaloids and vitaesteróides. Many of phytochemicals that fruit are responsible for the capture of free radicals by acting as antioxidants and degenerative diseases prevention. Besides fresh consumption, the fruits are used for making jams, indicating the presence of pectins. In this context, the study of bioactive compounds, the extraction and characterization of polysaccharides from the fruit of *P. angulata* becomes relevant because it is a fruit native and underexplored in the area of Food Engineering. This work was divided into four chapters. Chapter 1 concisely discusses the characteristics of the genus *Physalis*, the definition and the importance of bioactive compounds and polysaccharides in fruits and food products. Chapter 2 shows the profile of soluble and insoluble phenolic acids in the fruits of *P. angulata* obtained by high performance liquid chromatography (HPLC); the antioxidant activity of the extracts, determined by the ability of the extract to capture the free radical (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil-DPPH); evaluation of total phenolic compounds of the fruits of *P. angulata* in two stages of maturation. Chapter 3 deals with the characterization of the byproducts of *P. angulata* fruit, calyx flour and oil from the seeds of the fruit. Identifying the major flavonol HPLC/MS; evaluation of the content of phenolic compounds and antioxidant activity determined by the DPPH • method in calyx. The flour from the seeds of the fruit was performed to determine the physical and chemical composition, the majority minerals identified by ICP-OES (optical emission spectrometry by inductively coupled plasma) and the TPC content by Folin-Ciocalteou. In the oil extracted from flour to identify the fatty acid composition was determined by ICP-OES and phospholipids content calculated using phosphorus content by the conversion factor. Chapter 4 describes the physicochemical characterization of the fruits of *P. angulata*, the extraction of polysaccharides and their characterization by monosaccharide composition analysis of homogeneity performed on a chromatograph steric exclusion high pressure (HPSEC), the degree of esterification of pectins analyzed by infrared spectroscopy (FT-IR) analysis, ¹³C-NMR spectroscopy. The rheological properties were evaluated using plots of apparent viscosity and dynamic oscillatory tests.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

FIGURA 1 - <i>Physalis angulata</i> L.	26
FIGURA 2 - ESTRUTURA QUÍMICA DE UM FLAVONÓIDE	29
FIGURA 3 - ESTRUTURA QUÍMICA DOS ÁCIDOS FENÓLICOS	32
FIGURA 4 - MODELO DE PAREDE CELULAR PRIMÁRIA	33
FIGURA 5 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA ESTRUTURA DAS PECTINAS	35

CAPÍTULO 2

FIGURA 1 - <i>Physalis angulata</i> L.	50
FIGURA 2 - PERFIL CROMATOGRÁFICO OBTIDO POR HPLC.....	55

CAPÍTULO 3

FIGURA 1 - CÁLICES DE FRUTOS DE <i>Physalis angulata</i> L.	69
FIGURA 2 - FRUTO DE <i>Physalis angulata</i> L.	70
FIGURA 3 - PERFIL CROMATOGRÁFICO OBTIDO POR HPLC DA MISTURA DE PADRÕES DE FLAVONÓIS (A); EXTRATO METANÓLICO DAS AMOSTRAS DOS CÁLICES DE FRUTOS DE <i>Physalis</i> <i>angulata</i> L. (B)	77
FIGURA 4 - ESPECTRO HPLC/MS DO CÁLICE DE <i>P. angulata</i>	77
FIGURA 5 - FARINHA DAS SEMENTES DE <i>P. angulata</i>	79
FIGURA 6 - ÓLEO EXTRAÍDO DAS SEMENTES DO FRUTO DE <i>Physalis</i> <i>angulata</i> L.	81

CAPÍTULO 4

FIGURA 1 - FLUXOGRAMA DE EXTRAÇÃO DOS POLISSACARÍDEOS DOS FRUTOS DE <i>P. angulata</i>	97
FIGURA 2 - FRUTO DE <i>Physalis angulata</i> L.	100

FIGURA 3 -	PERFIL DE ELUIÇÃO POR HPSEC-MALLS DAS FRAÇÕES W (A); ED (B); CA (C); 2M (D) E 6M (E) OBTIDAS DOS FRUTOS DE <i>P. angulata</i> . LS, DETECTOR DE ESPALHAMENTO DE LUZ A 90° E RI, DETECTOR DE ÍNDICE DE REFRAÇÃO	106
FIGURA 4 -	ESPECTRO DE INFRAVERMELHO (FT-IR) DAS FRAÇÕES PÉCTICAS W (A); ED (B); CA (C) OBTIDAS DOS FRUTOS DE <i>P. angulata</i>	108
FIGURA 5 -	ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DA FRAÇÃO W EM D_2O A 70 °C....	109
FIGURA 6 -	ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DA FRAÇÃO ED EM D_2O A 70 °C...	110
FIGURA 7 -	ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DA FRAÇÃO CA EM D_2O A 70 °C..	110
FIGURA 8 -	CURVA DE VISCOSIDADE APARENTE A 25 °C DAS FRAÇÕES W SOLUBILIZADAS EM ÁGUA DEIONIZADA A UMA CONCENTRAÇÃO DE 5 g.100g $^{-1}$	111
FIGURA 9 -	CURVA DE VISCOSIDADE APARENTE A 25 °C DAS FRAÇÕES ED SOLUBILIZADAS EM ÁGUA DEIONIZADA A UMA CONCENTRAÇÃO DE 5 g.100g $^{-1}$	111
FIGURA 10 -	CURVA DE VISCOSIDADE APARENTE A 25 °C DAS FRAÇÕES CA SOLUBILIZADAS EM ÁGUA DEIONIZADA A UMA CONCENTRAÇÃO DE 5 g.100g $^{-1}$	112
FIGURA 11 -	VARREDURA DE FREQUÊNCIA A 25 °C DA FRAÇÃO W SOLUBILIZADA EM ÁGUA DEIONIZADA A UMA CONCENTRAÇÃO DE 5 g.100g $^{-1}$	113
FIGURA 12 -	VARREDURA DE FREQUÊNCIA A 25 °C DA FRAÇÃO ED SOLUBILIZADA EM ÁGUA DEIONIZADA A UMA CONCENTRAÇÃO DE 5 g.100g $^{-1}$	113
FIGURA 13 -	VARREDURA DE FREQUÊNCIA A 25 °C DA FRAÇÃO CA SOLUBILIZADA EM ÁGUA DEIONIZADA A UMA CONCENTRAÇÃO DE 5 g.100g $^{-1}$	113

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

TABELA 1 - ESTRUTURAS DOS FLAVONÓIDES E SUAS RESPECTIVAS FONTES	30
---	----

CAPÍTULO 2

TABELA 1 - CONTEÚDO DOS ÁCIDOS FENÓLICOS NAS FRAÇÕES SOLÚVEL (FS) E INSOLÚVEL (FI) NOS DOIS ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO EM FRUTOS DE <i>Physalis angulata</i> L. E FRUTOS MADUROS DE <i>Physalis peruviana</i>	56
TABELA 2 - CONTEÚDO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (TPC) NAS FRAÇÕES SOLÚVEL E INSOLÚVEL NOS DOIS ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO EM FRUTOS DE <i>Physalis angulata</i> L. COMPARANDO COM FRUTOS DE <i>Physalis peruviana</i>	58
TABELA 3 - ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM DPPH• NAS FRAÇÕES SOLÚVEL E INSOLÚVEL NOS DOIS ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO EM FRUTOS DE <i>Physalis angulata</i> L. COMPARANDO COM FRUTOS DE <i>Physalis peruviana</i>	58
TABELA 4 - COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (TPC) E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE (DPPH•) EM EXTRATO METANÓLICO DE FRUTOS DE <i>Physalis angulata</i> L. EM DOIS ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO E EM FRUTOS MADUROS DE <i>Physalis peruviana</i>	59

CAPÍTULO 3

TABELA 1 - COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DOS CÁLICES DE FRUTOS DE <i>P. angulata</i>	76
TABELA 2 - TEORES DE FLAVONÓIS EM CÁLICES DE FRUTOS DE <i>P. angulata</i>	78
TABELA 3 - COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DA FARINHA DAS SEMENTES DE FRUTOS DE <i>Physalis angulata</i> L.	79
TABELA 4 - COMPOSIÇÃO MINERAL DA FARINHA DAS SEMENTES DE FRUTOS DE <i>Physalis angulata</i> L.	80
TABELA 5 - ÁCIDOS GRAXOS DAS SEMENTES DE FRUTOS DE <i>Physalis angulata</i> L.	82

CAPÍTULO 4

TABELA 1 - CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO FRUTO DE <i>Physalis angulata</i> L. EM COMPARAÇÃO COM A LITERATURA	102
TABELA 2 - RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO MONOSSACARÍDICA DAS FRAÇÕES OBTIDAS DOS FRUTOS DE <i>P. angulata</i>	104
TABELA 3 - GRAU DE ESTERIFICAÇÃO DAS FRAÇÕES PÉCTICAS (W, ED e CA) OBTIDAS DOS FRUTOS DE <i>Physalis angulata</i> L.	109
TABELA 4 - VISCOSIDADE APARENTE DAS TRÊS FRAÇÕES OBTIDAS EM DIFERENTES TAXAS DE CISALHAMENTO	112

LISTA DE ABREVIATURAS

ATT	- Acidez titulável total
CFT	- Compostos fenólicos totais
CA	- Fração polissacarídica extraída com ácido cítrico 2 %
2M	- Fração polissacarídica extraída com NaOH 2M
6M	- Fração polissacarídica extraída com NaOH 6M
DE	- Grau de esterificação
DPPH	- 2,2-difenil-1-picrilhidrazil
ED	- Fração polissacarídica extraída com EDTA 2 %
FT-IR	- Infravermelho com transformada de Fourier
G'	- Módulo de Cisalhamento elástico ou módulo de armazenamento
G''	- Módulo de Cisalhamento viscoso ou módulo de perda
GLC	- Cromatografia líquida- gasosa
HPLC	- Cromatografia líquida de alta eficiência
HPLC-MS	- Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao espectro de massa
HPSEC	- Cromatografia de exclusão estérica de alta pressão
HM	- Pectinas com grau de esterificação superior a 50 %
ICP-OES	- Espectrometria de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente
ICONTEC	- Instituto Colombiano de Normas Técnicas
LM	- Pectinas com grau de esterificação inferior a 50 %
mgAGE	- Miligramas de ácido gálico
MALLS	- Detector de espalhamento de luz laser em multiângulos
RG	- Ramnogalacturana
RG-I	- Ramnogalacturanas do tipo I
RG-II	- Ramnogalacturanas do tipo II
RI	- Detector de índice de refração diferencial
RMN	- Ressonância magnética nuclear
SST	- Sólidos solúveis totais
TFA	- Ácido trifluoracético
UV	- Detector ultravioleta
W	- Fração polissacarídica extraída com água
γ	- Deformação

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	9
GENERAL ABSTRACT.....	11
JUSTIFICATIVA	21
OBJETIVOS	22
OBJETIVO GERAL	22
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
 CAPÍTULO 1 – FRUTOS DE <i>Physalis angulata</i> L., COMPOSTOS BIOATIVOS E POLISSACARÍDEOS: UMA REVISÃO	
1. GÊNERO <i>Physalis</i>	24
1.1. <i>Physalis angulata</i> L.	25
2. COMPOSTOS BIOATIVOS	27
2.1. FLAVONÓIDES	28
2.2. ÁCIDOS FENÓLICOS	31
3. PECTINAS	32
4. FARINHA DAS SEMENTES DE FRUTAS	36
5. REFERÊNCIAS	38
 CAPÍTULO 2 – ÁCIDOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS FRUTOS <i>Physalis angulata</i> L. EM DOIS ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO	
RESUMO	47
ABSTRACT	48
1. INTRODUÇÃO	49
2. MATERIAL E MÉTODOS	51
2.1. FRUTOS	51
2.1.1. <i>Physalis angulata</i> L.	51
2.1.2. <i>Physalis peruviana</i>	51
2.2. PADRÕES E SOLVENTES	51
2.3. EXTRAÇÃO	52
2.3.1. Extração da fração solúvel (FS) e fração insolúvel (FI) dos ácidos fenólicos....	52

2.3.2.	Extração metanólica	52
2.4.	DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (CFT)	53
2.5.	DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DPPH•	53
2.6.	ANÁLISE DOS ÁCIDOS FENÓLICOS POR HPLC	53
2.7.	ANÁLISE ESTATÍSTICA	54
3.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	54
3.1.	IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS ÁCIDOS FENÓLICOS SOLÚVEIS E INSOLÚVEIS EM FRUTOS DE <i>Physalis angulata</i> L. POR HPLC	54
3.2.	DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (CFT) E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE (DPPH•) NAS FS E FI DOS EXTRATOS DE ÁCIDO FENÓLICO DE <i>Physalis</i>	57
3.3.	DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (CFT) E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE (DPPH•) EM EXTRATO METANÓLICO DE <i>Physalis</i>	59
4.	CONCLUSÕES	61
5.	REFERÊNCIAS	61

CAPÍTULO 3 - CARACTERIZAÇÃO DOS SUBPRODUTOS DE *Physalis angulata* L.: CÁLICES, FARINHA E ÓLEO DAS SEMENTES

RESUMO	67
ABSTRACT	68
1. INTRODUÇÃO	69
2. MATERIAL E MÉTODOS	71
2.1. FRUTOS DE <i>Physalis angulata</i> L.	71
2.1.1. Cálice	71
2.1.2. Farinha das sementes	71
2.1.3. Óleo da semente	72
2.2. PADRÕES E SOLVENTES	72
2.3. ANÁLISES	72
2.3.1. CÁLICE	72
2.3.1.1. Composição Centesimal	72
2.3.1.2. Extrato metanólico dos cálices de <i>P. angulata</i>	72

2.3.1.3.	Análise dos flavonóis por HPLC/MS	73
2.3.1.4.	Determinação de compostos fenólicos totais (CFT)	73
2.3.1.5.	Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH•	74
2.3.2.	FARINHA DAS SEMENTES	74
2.3.2.1.	Composição centesimal	74
2.3.2.2.	Determinação dos minerais	74
2.3.2.3.	Determinação de compostos fenólicos totais (CFT)	74
2.3.3.	ÓLEO DA FARINHA DAS SEMENTES	75
2.3.3.1.	Composição dos ácidos graxos	75
2.3.3.2.	Determinação de fosfolipídeos	75
3.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	75
3.1.	CÁLICE	75
3.1.1.	Composição centesimal	75
3.1.2.	Identificação e quantificação do flavonol majoritário em cálices de <i>P. angulata</i> por HPLC/MS	76
3.1.3.	Determinação dos compostos fenólicos totais (CFT) e atividade antioxidante (DPPH•) em cálices de frutos de <i>P. angulata</i>	78
3.2.	FARINHA DAS SEMENTES <i>Physalis angulata</i>	79
3.2.1.	Composição centesimal da farinha	79
3.2.2.	Determinação dos minerais	80
3.2.3.	CFT	81
3.3.	ÓLEO DA SEMENTE	81
3.3.1.	Composição de ácidos graxos do óleo extraído da farinha das sementes do fruto de <i>P. angulata</i>	81
3.3.2.	Fosfolipídeos	83
4.	CONCLUSÕES	83
5.	REFERÊNCIAS	84

CAPÍTULO 4 - EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS POLISSACARÍDEOS DOS FRUTOS DE *Physalis angulata* L.

RESUMO	91
ABSTRACT	92

1.	INTRODUÇÃO	93
2.	MATERIL E MÉTODOS	94
2.1.	FRUTOS DE <i>Physalis angulata</i> L	94
2.2.	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA	95
2.3.	EXTRAÇÃO DOS POLISSACARÍDEOS	95
2.4.	DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO MONOSSACARÍDICA	98
2.4.1.	Cromatografia líquida-gasosa (GLC)	98
2.4.2.	Cromatografia de exclusão estérica acoplada à detecção por espalhamento de laser multiângulos e índice de refração (HPSEC-MALLS/RI)	98
2.4.3.	Espectroscopia de infravermelho (FT-IR)	99
2.4.4.	Espectroscopia ressonância magnética nuclear de ^{13}C (^{13}C -RMN)	99
2.5.	REOLOGIA	99
2.5.1.	Preparo das amostras	99
2.5.2.	Análises reológicas	99
3.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	100
3.1.	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS FRUTOS DE <i>P. angulata</i> ...	100
3.2.	OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS POLISSACARÍDEOS	103
3.3.	ANÁLISES REOLÓGICAS DAS FRAÇÕES PÉCTICAS	111
4.	CONCLUSÕES	114
5.	REFERÊNCIAS	115
	CONCLUSÕES GERAIS	124

JUSTIFICATIVA

Physalis angulata L., é uma espécie que apresenta grande potencial econômico, sendo classificado como fruto fino, a exemplo da cereja, framboesa, pitaya e mirtilo. Sua produção caracteriza-se pelo custo de produção acessível aos pequenos produtores e boa adaptação as condições do ambiente. Contém de 100 a 300 sementes, sendo facilmente separadas da polpa. É revestido por um cálice que serve para protegê-lo de condições ambientais adversas e pode ser fonte de carboidratos durante os vinte primeiros dias de crescimento do fruto. Embora estudos demonstrem que sua manutenção no fruto é favorável, este cálice é descartado antes da armazenagem.

A revisão da literatura mostra que ainda há pouca informação a respeito da caracterização do fruto e seus subprodutos no Brasil, e os principais relatos desta espécie são voltados principalmente à farmacologia e condições agronômicas da planta.

A pesquisa a respeito da identidade e de teor de compostos fenólicos envolvidos no processo de amadurecimento dos frutos de *Physalis angulata*, a caracterização dos seus subprodutos e dos polissacarídeos, torna-se relevante, pois deverá aumentar o investimento e apelo comercial destes frutos e, conseqüentemente o interesse da indústria alimentícia em sua utilização.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Avaliar compostos bioativos e polissacarídeos do fruto de *Physalis angulata* L. e caracterizar seus subprodutos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a composição físico-química e o teor de ácidos fenólicos do fruto de *Physalis angulata* em dois estádios de maturação, comparando com os frutos de *Physalis peruviana*;
- Determinar a composição centesimal e o flavonol majoritário do cálice dos frutos de *Physalis angulata* ;
- Caracterizar a farinha das sementes do fruto de *Physalis angulata*, bem como o seu óleo extraído;
- Obter os polissacarídeos dos frutos de *Physalis angulata* através de extrações sequenciais: aquosa, ácida e alcalina;
- Caracterizar as frações polissacarídicas isoladas dos frutos de *Physalis angulata*.

CAPÍTULO 1

FRUTOS DE *Physalis angulata* L., COMPOSTOS BIOATIVOS E POLISSACARÍDEOS: UMA REVISÃO

FRUTOS DE *Physalis angulata* L., COMPOSTOS BIOATIVOS E POLISSACARÍDEOS: UMA REVISÃO

Ana Mery de Oliveira-Camlofski^a, Rosemary Hoffmann Ribani^a, Carmen Lúcia de Oliveira Petkowicz^b

^a Programa de Engenharia de Alimentos – PPGEAL, Universidade Federal do Paraná, 81531-980 Curitiba, Pr, Brasil

^b Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal do Paraná, Caixa Postal: 19046, 81531-990, Curitiba, Pr, Brasil.

1. GÊNERO *Physalis*

O gênero *Physalis* L. pertence à família Solanaceae a qual apresenta cerca de 150 gêneros e 3000 espécies. No Brasil, ocorrem 32 gêneros e 350 espécies, sendo que a esta família pertencem diversas plantas de interesse econômico utilizadas na alimentação como: o tomate (*Solanum lycopersicum*), a batata (*Solanum tuberosum*), as pimentas, o pimentão (*Capsicum spp*) e a beringela (*Solanum melongena*) (SOUZA; LORENZI, 2005). Este gênero possui aproximadamente cento e vinte espécies com caracteres herbáceos, distribuídos nas zonas temperadas do globo terrestre, principalmente nas Américas Central e do Sul, com centros desta diversidade taxonômica no México e nos Estados Unidos (MAGALHÃES, 2005; NURIT SILVA; AGRA, 2005).

O centro de origem da *Physalis* sp é desconhecido, mas se acredita que seja nos Andes. Na América do Sul encontra-se seu maior produtor, a Colômbia, onde as frutas são comercializadas pelo nome de *uchuva*. No Peru, são conhecidas como *tomate silvestre* ou *uchuba*; na Bolívia *capulí* ou *motojubo embolsado* (FRANCO *et al.*, 2007); *uvilla* no Equador (VASCO; RUALES; KAMAL-ELDIN, 2008) e *Kuzhi* na China (DAMU *et al.*, 2007). Em outras regiões *capulí*, *aguaymanto*, *goldenberry*, *awaymanto*, entre outros. No Brasil, encontra-se no Norte e Nordeste, sendo conhecido como: camapu, camambu, camaru, joá-de-capote, joá-poca, balão-rajado, saco-de-bode, bucho-de-rã e mata-fome (LORENZI; MATOS, 2002; CARRASCO; ZELADA, 2008).

Na Colômbia, o cultivo desse gênero iniciou-se em 1985, com a comercialização da fruta *in natura* e processada (CORPORACIÓN COLOMBIANA INTERNACIONAL, 2000; RUFATO *et al.*, 2008). No Brasil, a inserção da fruta teve início em 1999, na Estação Experimental de Santa Luzia/SP, visando o melhoramento genético (RUFATO *et al.*, 2008).

O nome *Physalis* provém do grego onde “Physa” significa bolha ou bexiga, referindo-se ao cálice que sustenta seus frutos comestíveis que contém de 150 a 300 sementes (TOMASSINI *et al.*, 2000; AGUILAR *et al.*, 2006).

As espécies deste gênero apresentam uma extensa lista de constituintes químicos, como os flavonóides simples ou glicosilados, os ácidos graxos de cadeia linear (C6 a C24), hidroxilados, epoxilados, o ácido ascórbico, os carotenóides, os alcalóides e vitaesteróides. Estes compreendem substâncias químicas que reproduzem o esqueleto do ergostano intacto ou modificado, com função lactônica em C-26, com uma diversidade de estruturas classificadas em oito grupos subdivididos em: vitanolidos, vitanolidos “modificados”, vitafisalinas, acnistinas, ixocarpalactonas, perulactonas e fisalinas. Dentre esses compostos, a fisalina apresenta elevada produção pelo gênero *Physalis* (TOMASSINI *et al.*, 2000). De acordo com a Fundação Oswaldo Cruz-Ceará, a fisalina atua no sistema imunológico humano evitando a rejeição a órgãos transplantados.

Segundo Rufato *et al.* (2008) esse gênero engloba plantas das quais são aproveitadas todas as partes, desde as raízes até as folhas, utilizadas medicinalmente; o fruto é consumido em diversas formas e o cálice pode ser utilizado em ornamentações.

Dentre as propriedades medicinais, já foram atribuídas ao fruto a redução do mau colesterol, a diminuição da glicemia e ação diurética. De acordo com a medicina popular, essa planta também apresenta ação no combate ao reumatismo, doenças de pele, rins, fígado, bexiga, malária e hepatite (RUFATO *et al.*, 2008). A literatura reporta benefícios farmacológicos relacionados a este gênero como atividade antitumoral (WU *et al.*, 2004; HSIEH *et al.*, 2006; MAGALHÃES, 2005), anti-inflamatória (CHOI; HWANG, 2003), anti-microbiana (PIETRO *et al.*, 2000), (TOMASSINI *et al.*, 2000; GUIMARÃES *et al.*, 2010), antiparasitário, antiviral (LIMA *et al.*, 2006) e o seu uso popularmente conhecido para problemas urinários, asma e reumatismo. Acredita-se que o grande leque de propriedades atribuído a esta planta, justifica-se em função da diversidade de compostos que as espécies desse gênero podem apresentar.

1.1. *Physalis angulata* L.

Fruto nativo da América do Sul é uma espécie com ampla adaptação ecológica, apresentando potencial para cultivo comercial e produção no Brasil (ALVARADO *et al.*, 2004; MAGALHÃES, 2005; MUNIZ *et al.*, 2011). Classificado como uma espécie tolerante, devido à sua adaptação a diferentes climas temperados e aos tipos de solo (FISCHER, 2000). Sua reprodução ocorre através de sementes altamente germinativas, de ciclo anual e herbáceo,

crescendo espontaneamente sob a forma de pequenas populações. Por essa característica é considerada uma planta daninha, infestando lavouras agrícolas e terrenos baldios (LORENZI; MATOS, 2002).

É um fruto climatérico do tipo baga, carnosos, de coloração amarelo-esverdeada e aroxeada, com diâmetro entre 1,0 a 1,5 cm, contendo pequenas e numerosas sementes (FIGURA 1). O fruto é envolto por um cálice com finalidade de protegê-lo de condições ambientais adversas (ALVARADO *et al.*, 2004; MAGALHÃES, 2005) e serve como fonte de carboidratos durante os primeiros vinte dias de crescimento. Além de prolongar a vida pós-colheita dos frutos, o cálice é considerado um indicador para determinação do ponto de colheita (ÁVILA *et al.*, 2006).



FIGURA 1 – *Physalis angulata* L. (A = FLOR; B = CÁLICE; C = FRUTO)
FONTE: AUTOR

Os frutos de *P. angulata* possuem diversos compostos secundários de natureza fenólica (HARBONE; WILLIAMS, 2000). Estudos clínicos e epidemiológicos têm mostrado evidências de que antioxidantes fenólicos de cereais, frutas e vegetais são os principais fatores que contribuem para a redução da incidência de doenças crônicas e degenerativas em populações cujas dietas se caracterizam por uma elevada ingestão desses alimentos (SHAHIDI, 2008).

A espécie contém compostos químicos biologicamente ativos como os alcalóides, os flavonóides (kaempferol, quercetina, rutina,) os esteróides (β -sitosterol, estigmasterol, campesterol, 24-metileno-colesterol e outros), bem como ácidos graxos de cadeia linear (C6 e C24), hidroxilados, epoxilados; carotenóides e ácido ascórbico (SILVA; AGRA, 2005; ARRUDA, 2008).

Das folhas e troncos de *P. angulata* já foram isolados e caracterizados quimicamente grupos de esteróides conhecidos como fisalinas, flavonoides e glicosídeos (TOMASSINI *et al.*, 2000). Em outros estudos, avaliando-se a atividade antimicrobiana dessa espécie,

utilizando frações de extratos metanólicos obtidos de frutos e raízes, foi demonstrado que os extratos inibiam o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* (SILVA *et al.*, 1999; SILVA *et al.*, 2005).

Segundo recente revisão bibliográfica, há poucos dados referenciados em artigos científicos sobre o fruto de *P. angulata*, o que ressalta a importância de estudos de caracterização para que a comercialização e exploração do potencial tecnológico do fruto possam ser alcançadas.

2. COMPOSTOS BIOATIVOS

Os frutos, em geral, são responsáveis por 90 % da ingestão de vitaminas, sais minerais e fibras na alimentação humana. Além disto, apresentam fitoquímicos que podem contribuir para a preservação da saúde, responsáveis pela captura de radicais livres, atuando como antioxidantes. Entre esses se destacam algumas vitaminas, certos compostos fenólicos e carotenóides (FONTANNA *et al.*, 2000).

As frutas são excelentes fontes de flavonóides e ácidos fenólicos (derivados de ácidos cinâmicos e derivados de ácido benzóico), sendo reportado na literatura que o consumo regular de frutas está diretamente relacionado à prevenção de várias doenças (HAMINIUK *et al.*, 2012).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda o consumo mínimo de 400g de frutas diariamente (WHO, 2003a). Programas de incentivo ao consumo destes alimentos foram elaborados, principalmente em países desenvolvidos, sendo denominados *Five a Day*, onde se recomenda a ingestão de cinco porções de frutas e hortaliças diariamente (WHO, 2003b). No Brasil, foi desenvolvido um guia alimentar que recomenda no mínimo o consumo de seis porções/dia (BRASIL, 2006).

A atividade antioxidante apresentada por vários vegetais, incluindo frutos, folhas, sementes e plantas medicinais está correlacionada, em geral, ao seu teor de compostos fenólicos totais. Os compostos fenólicos são originados basicamente por duas rotas bioquímicas diferentes, seja pela via do chiquimato ou pela via do acetato/malonato. A rota do ácido chiquímico é iniciada com a condensação de fosfoenolpiruvato e eritrose-4-fosfato, para a formação de ácido chiquímico (HERRMAN; WEAVER, 1999). A partir deste composto forma-se o corismato, molécula precursora dos aminoácidos fenilalanina, tirosina e triptofano (TAIZ; ZEIGER, 2004). A chalcona sintase é a enzima que catalisa a formação da chalcona intermediária básica, da qual todos os flavonóides são formados, pela condensação de três

moléculas de malonil-CoA com uma molécula de 4-cumaril-CoA. Através de subseqüentes hidroxilações e reduções, as plantas sintetizam as diferentes classes dos flavonóides (ROBARDS; ANTOLOVICH, 1997; WINKEL-SHIRLEY, 2001; DIXON *et al.*, 2002).

Estas substâncias apresentam importância na defesa do estresse da planta, na proteção contra os danos causados por patógenos ou excesso de luz UV (WINKEL-SHIRLEY, 2001). Estes fitoquímicos foram efetivos no sequestro de radicais livres em testes *in vitro*, sendo antioxidantes importantes devido ao seu alto potencial redox e sua capacidade em quelar metais (TSAO; YANG, 2003; EL GHARRAS, 2009; IGNAT *et al.*, 2011).

Os radicais livres podem ser gerados no citoplasma, nas mitocôndrias ou na membrana, estando seu alvo celular (proteínas, lipídeos, carboidratos e DNA) relacionado ao seu sítio de formação (ANDERSON, 1996; YU; ANDERSON, 1997). A formação de radicais livres *in vivo* ocorre durante os processos de transferência de elétrons, durante o metabolismo celular e pela exposição a fatores exógenos como: radiações gama e ultravioleta, medicamentos, dieta e tabagismo (CERUTTI, 1991, 1994).

Podem ser classificados como radicais livres as moléculas orgânicas e inorgânicas e os átomos com um ou mais elétrons não pareados, de existência independente (HALLIWELL, 1994), característica que lhes confere instabilidade. Embora a presença desses radicais seja crítica para a manutenção de muitas funções fisiológicas normais (POMPELLA, 1997), a sua produção contínua durante os processos metabólicos estimula muitos mecanismos de defesa antioxidante, para limitar os seus níveis intracelulares e impedir a indução de danos (SIES, 1993). Os antioxidantes são agentes responsáveis pela inibição e redução das lesões causadas pelos radicais livres nas células. Sua utilização é um dos mecanismos de defesa contra os radicais livres que podem ser empregados nas indústrias de alimentos, cosméticos, bebidas e também na medicina. (HALLIWELL *et al.*, 1995; WEIJL, CLETON; OSANTO, 1997).

2.1. FLAVONÓIDES

Os compostos fenólicos constituem uma importante classe, sendo os flavonóides o maior grupo de pigmentos fenólicos, presentes em frutas, vegetais e grãos, principais responsáveis pelos pigmentos de cor azul e vermelho, que compreendem as antocianinas, enquanto que os tons de amarelo compreendem as antoxantinas (ARAÚJO, 2004).

Segundo Heim; Tagliaferro; Bobilya (2002), mais de 4000 estruturas de flavonóides já foram identificadas, e o consumo destes compostos apresenta efeitos benéficos para o organismo (JÁUREGUI *et al.*, 2007). Entre as várias atividades biológicas relatadas para os

flavonóides podem ser citados: antioxidante, antialérgica, anti-inflamatória, antiviral, vasoprotetora e anti-hepatotóxica (VALDAMERI, 2008).

A estrutura química dos flavonóides (FIGURA 2) caracteriza-se como difenilpropanos ($C_6-C_3-C_6$) com 15 átomos de carbono arranjados em dois anéis benzênicos (A e B) ligados a um anel pirano (C), divididos em classes de acordo com suas propriedades químicas, apresentados na forma glicosilada (ARAÚJO, 2004).

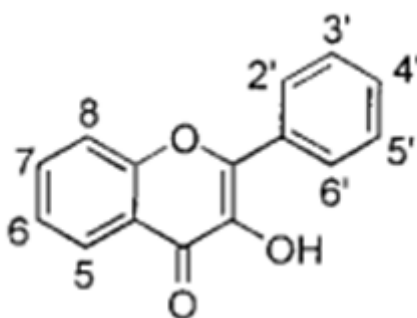
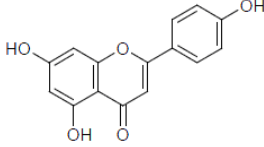
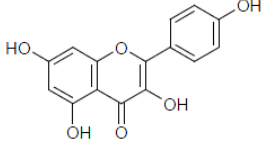
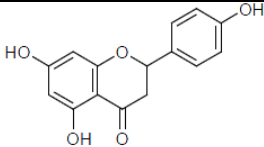
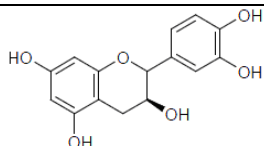
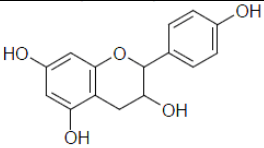
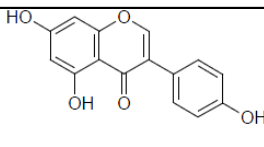


FIGURA 2 – ESTRUTURA QUÍMICA DE UM FLAVONÓIDE
FONTE: ROBARDS *et al.* 1999.

A partir desta estrutura, várias combinações podem ser formadas, principalmente com a presença de hidroxilas e metoxilas. Segundo Moon; Wang; Morris (2006), os flavonóides apresentam como principal classificação: flavonas, flavonóis, flavanonas, flavanóis, antocianidinas e isoflavonas, apresentadas na TABELA 1.

As diferenças entre cada um destes grupos estão relacionadas com a variação no número e no arranjo dos grupos hidroxila, bem como sua natureza. Por exemplo, a cor vibrante dos flavonóides (flavonas e antocianinas) age como atrativo para os insetos polinizadores, assim como protetores de células vegetais por sequestrar espécies reativas de oxigênio produzidas pela radiação UV indispensável à fotossíntese (PIETTA, 2000). Apresentam um ou mais grupos hidroxila diretamente ligados a um anel aromático, caracterizando a estrutura fenólica (VERMERRIS; NICHOLSON, 2006).

TABELA 1 - ESTRUTURAS DOS FLAVONÓIDES E SUAS RESPECTIVAS FONTES

CLASSE	ESTRUTURA	EXEMPLOS	FONTE
FLAVONA	 <p>Apigenina</p>	Apigenina Luteolina Acacetina Baicaleína Crisina Tangeritina	Salsa, tomilho, aipo, pimentão vermelho, mel, própolis
FLAVONOL	 <p>Kaempferol</p>	Kaempferol Galangina Morina Miricetina Quercetina	Cebola, brócolis, maçã, cereja, framboesa, chá, vinho tinto
FLAVANONE	 <p>Naringenina</p>	Naringerina Eriodictiol Hesperetina Homoeridictiol	citrus
FLAVANOL	 <p>Epicatequina</p>	Epicatequina Catequina Proantocianidinas	Cacau, chocolate, chá verde, vinho tinto e algumas ervas
ANTOCIANIDINA	 <p>Cianidina</p>	Cianidina	Cereja, uva, framboesa
ISOFLAVONA	 <p>Ginesteína</p>	Ginesteína Daidzeína	Alfafa, soja e alguns legumes

FONTE: MOON; WANG; MORRIS, 2006; VALDAMERI, 2008.

As hidroxilas são encontradas preferencialmente nos carbonos, nas posições 3, 5 ou 7 e a molécula também pode estar ligada com uma ou mais moléculas de açúcar (flavonóide glicosídeo) ou não ligadas a nenhuma molécula de açúcar (flavonóide aglicona). O grau de glicosilação afeta diretamente a capacidade antioxidante dos flavonoides. Usualmente, a forma aglicona (miricetina e quercetina) é mais ativa do que as formas glicosídicas (HOPIA; HEINONEN, 1999; KAUR; KAPOOR, 2001). Estes grupos de hidroxilas e açúcares aumentam as propriedades hidrofílicas da molécula, enquanto a ligação com ésteres metílicos aumenta as características hidrofóbicas (ARAÚJO, 2004).

A quercetina é o mais abundante flavonóide presente na dieta humana, representa aproximadamente 95% do total dos flavonóides ingeridos. Entre os demais flavonóides estudados em frutas podem citar ainda as antocianidinas, a rutina, o kaempferol, a miricetina, a apigenina e a luteolina entre outros (BEHLING *et al.*, 2004; RODRIGUEZ-AMAYA, , 2008).

2.2. ÁCIDOS FENÓLICOS

Os ácidos fenólicos são metabólitos secundários de plantas e compreendem uma classe dos compostos fenólicos, sendo dividido em duas classes principais: derivados de ácidos hidroxicinâmicos e derivados de ácido hidroxibenzóicos (FIGURA 3) (MANACH *et al.*, 2004). Apresentam caráter ácido devido à presença de um grupo carboxílico na molécula (ANNIE; JAN-JACQUES, 2003).

Os ácidos hidroxicinâmicos são mais comuns do que os ácidos hidroxibenzóicos e consistem principalmente dos ácidos *p*-cumárico, cafeico, ferúlico e sinápico. Estes ácidos são raramente encontrados na forma livre, exceto em alimentos processados que são submetidos ao congelamento esterilização e fermentação. Podem ser identificados em todas as partes do fruto, embora a sua maior concentração esteja na parte externa do fruto maduro (MANACH *et al.*, 2004). O ácido cafeico, tanto na forma livre como na forma esterificada, é em geral o ácido fenólico mais abundante e representa 75 e 100 % do total do conteúdo encontrado dos ácidos hidroxicinâmicos nas frutas (MANACH *et al.*, 2004).

Os ácidos hidroxibenzóicos são caracterizados pela presença de um grupo carboxílico substituído por um fenol. Exemplos: ácido *p*-hydroxibenzóico, gálico, protocateuquínico, salicílico e vanílico (VERMERRIS; NICHOLSON, 2006).

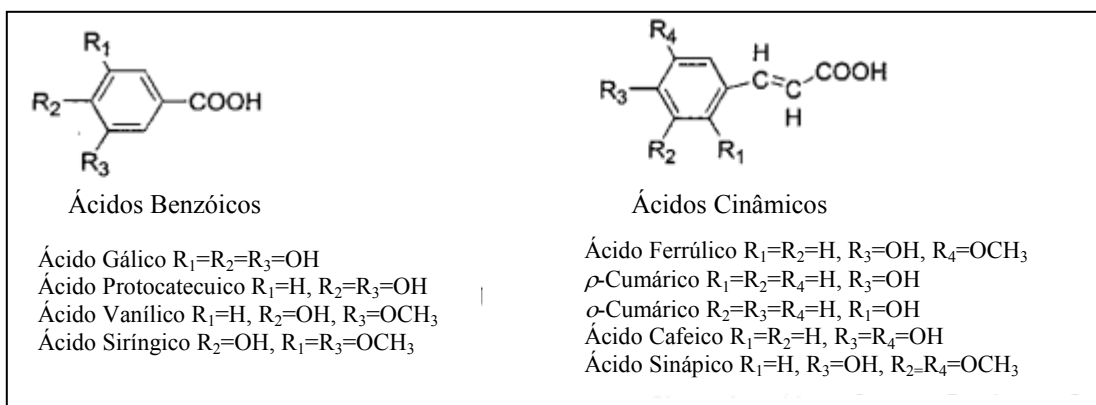


FIGURA 3 – ESTRUTURA QUÍMICA DOS ÁCIDOS FENÓLICOS
 FONTE: Robards *et al.* (1999).

Os ácidos fenólicos têm despertado interesse em pesquisadores e fabricantes de alimentos, devido às suas propriedades antioxidantes, abundância na dieta humana, e seu provável papel na prevenção de várias doenças associadas ao estresse oxidativo (SCALBERT; WILLIAMSON, 2000). São considerados como um dos componentes funcionais em frutas podendo contribuir no sequestro de radicais livres, inibir sua formação e prevenir danos oxidativos ao DNA (LODOVICI *et al.*, 2001).

A composição fenólica dos alimentos de origem vegetal depende do genótipo da planta e de fatores ambientais durante o crescimento e pós-colheita. Estudos reportam este comportamento, no qual o teor de compostos fenólicos e a capacidade antioxidante diminuem durante a maturação dos frutos (KOBAYASHI; WANG; POMPER, 2008; PEDISIC, *et al.*, 2007).

3. PECTINAS

Além de vitaminas, sais minerais, carotenóides e fenólicos, as frutas são importante fonte de fibras, oriundas da parede celular, responsáveis pela textura. A firmeza dos tecidos das plantas é determinada por três tipos de polissacarídeos presentes na parede celular: celulose, hemicelulose e pectina (VAN BUREN, 1979), sendo as pectinas o principal constituinte das fibras solúveis, enquanto a celulose e as hemiceluloses respondem pelas fibras insolúveis. A perda da firmeza é um processo que acompanha o amadurecimento de muitos frutos, resultando em mudanças estruturais que ocorrem na parede celular (CARPITA; GIBEAUT, 1993; CHITARRA; CHITARRA, 2005).

A parede celular determina a forma da célula e a textura do tecido. É uma estrutura dinâmica, que apresenta alterações constantes em sua composição e propriedades, devido ao

crescimento, ambiente e atividades da célula (BOWLES, 1990). De acordo com os modelos propostos, a parede celular consiste de uma rede de microfibrilas de celulose associadas a hemiceluloses. Esta rede está embebida em uma matriz formada por pectinas. Outros compostos como glicoproteínas ou fenólicos também podem estar presentes (DEY; HARBORNE, 1997; RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2001). Na FIGURA 4 está representado um modelo da estrutura da parede celular primária do tipo I, presente em todas as células de plantas da classe das dicotiledôneas.

Hemicelulose é um termo que abrange um grupo heterogêneo de polissacarídeos da matriz da parede celular, associados à celulose e a pectina. A xiloglucana é a principal hemicelulose da parede celular das espécies dicotiledôneas (WILKIE, 1979; COUGHALAN; HAZLEWOOD, 1993; COLLINS; FERRIER, 1995).

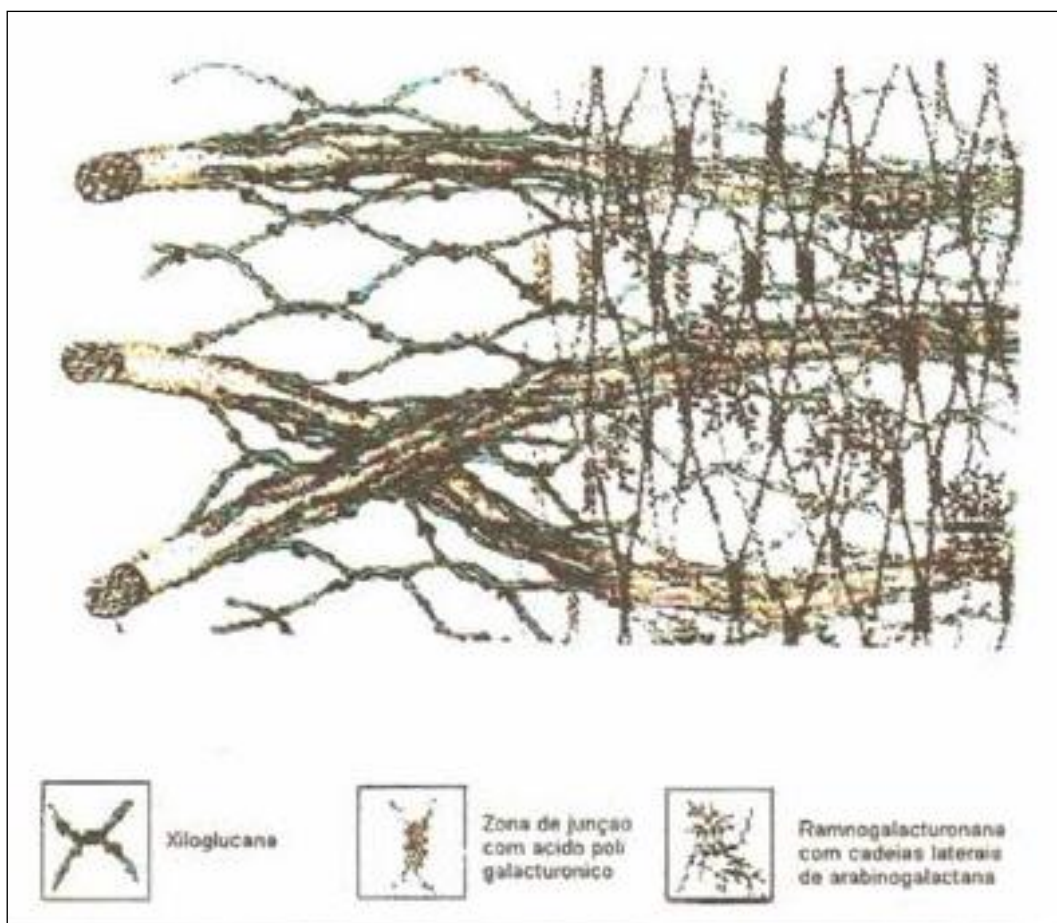


FIGURA 4: MODELO DE PAREDE CELULAR PRIMÁRIA
FONTE: Carpita; Gibeaut (1993).

As pectinas são polissacarídeos estruturais que formam um grupo complexo de compostos encontrados na parede celular primária e nas camadas intercelulares de plantas terrestres. Estão associadas à celulose e hemicelulose sendo abundantes em frutos e em tecidos jovens, tais como cascas de frutas cítricas (30 %), dentre as quais o limão é a fonte mais abundante. As pectinas contribuem para a adesão entre as células e para a resistência mecânica da parede celular. Além de seu papel importante no crescimento das células, estão envolvidas em interações com agentes patogênicos e a sua quantidade e natureza são determinantes para a textura de frutos e vegetais durante o seu crescimento, amadurecimento, armazenamento e processamento (ASPINALL, 1970).

As pectinas são polissacarídeos ricos em ácido galacturônico e incluem três classes principais de polímeros: Homogalacturonanas, Ramnogalacturonanas I (RG-I) e Ramnogalacturonanas II (RG-II) (FIGURA 5). Entre essas, as homogalacturonanas e as ramnogalacturonanas I são encontradas em maiores quantidades em frutos (VORAGEN *et al.*, 1995; CARPITA; McCANN, 2000).

Estruturalmente, as homogalacturonanas são constituídas por uma cadeia principal de unidades de ácido galacturônico ligadas por α -(1 \rightarrow 4), sendo que parte destas unidades apresenta-se esterificada, como éster metílico. As RG-I apresentam uma cadeia principal de unidades de ácido D-galacturônico ligadas por α -(1 \rightarrow 4) e ramnose ligadas por α -(1 \rightarrow 2), às quais estão ligadas cadeias laterais, formadas por açúcares neutros, principalmente D-galactose e L-arabinose. A RG-II é um heteropolímero de estrutura extremamente complexa formado por vários monossacarídeos, incluindo açúcares raros como a apiose, o ácido acérico, o Kdo e o Dha (FIGURA 5) (HWANG; KOKINI, 1992; VORAGEN *et al.*, 1995; CARPITA; McCANN, 2000).

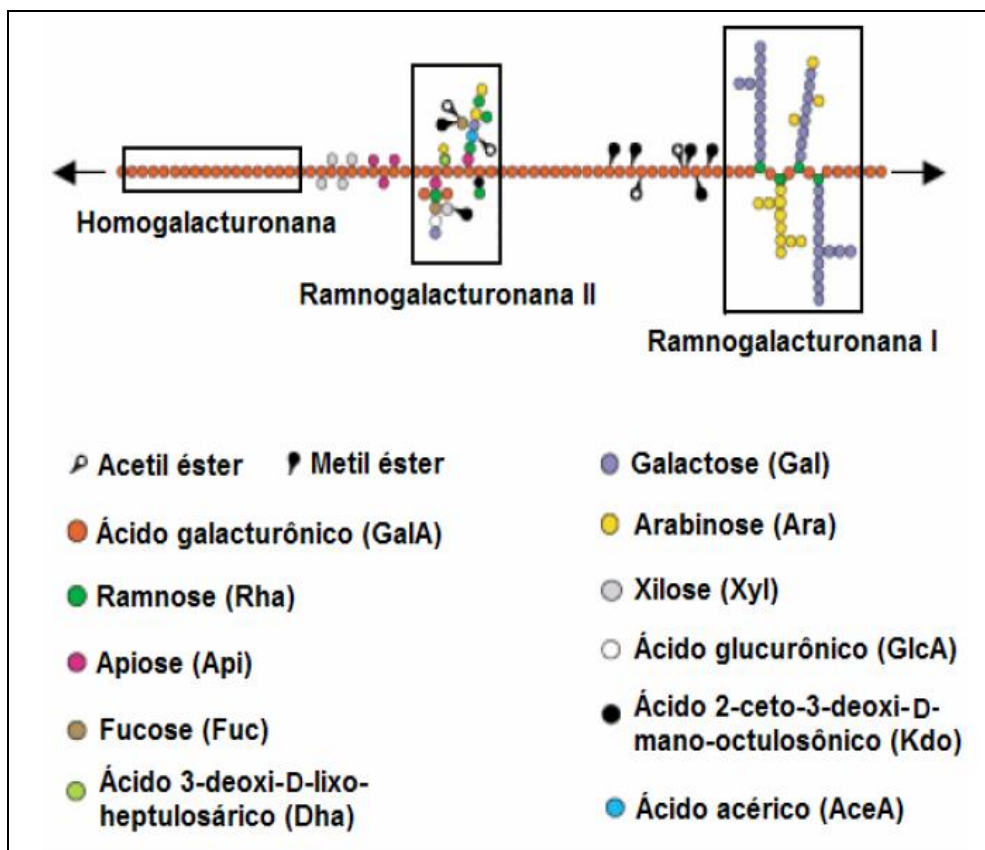


FIGURA 5 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA ESTRUTURA DAS PECTINAS.
 FONTE: ADAPTADO DE Willats; Knox; Mikkelsen (2006).

De acordo com a percentagem de grupos carboxílicos metil esterificados (grau de esterificação), as pectinas são subdivididas em duas classes: alto grau de metoxilação (> 50 %), HM, e baixo grau de metoxilação (< 50 %), LM. Comercialmente, as pectinas com alto grau de metoxilação apresentam teores na faixa de 55 a 75 %; nas de baixo grau de metoxilação, esses teores variam na faixa 15 a 45 %. As HMP possuem considerável poder geleificante e são amplamente usadas na geleificação de sucos de frutas para a obtenção de geleias (ASPINALL, 1970). A presença de cadeias laterais, principalmente com unidades de arabinose e galactose, afetam significativamente as propriedades funcionais das pectinas, tais como solubilidade, a formação de filme e propriedades reológicas, além de favorecer a agregação em soluções concentradas (HWANG; KOKINI, 1992).

Em condições específicas, as pectinas são capazes de formar géis e o mecanismo de formação de gel é dependente do grau de esterificação. Pectinas com alto grau de metoxilação geleificam em meio ácido, em presença de altas concentrações de um co-soluto, geralmente sacarose (AL-RUQAIE; KASAPIS; ABEYSEKERA, 1997). Pectinas com baixo grau de metoxilação geleificam na presença de cálcio e outros íons divalentes. A geleificação é devida

à formação de zonas de junções intermoleculares entre as regiões homogalacturônicas de diferentes cadeias, de acordo com o modelo *egg Box* (LOZANO; IGLESIAS, 2004).

As pectinas são polissacarídeos muito utilizados industrialmente, principalmente em produtos alimentícios, pois apresentam alto valor funcional como ingrediente alimentar, sendo amplamente utilizadas como agente geleificante e estabilizante. As pectinas comerciais são obtidas das cascas de frutas cítricas ou do bagaço da maçã, subprodutos da indústria de sucos (WILLATS; KNOX; MIKKELSEN, 2006). As características estruturais das pectinas variam de acordo com a fonte da qual esta é isolada e com as condições de extração (ROLIN; NIELSEN; GLAHN, 1998).

As propriedades das pectinas já são conhecidas há cerca de 200 anos, mas recentemente houve grande progresso na compreensão da estrutura complexa deste polímero. Com o aumento do conhecimento surgem novas aplicações. Pesquisadores estão começando a desenvolver a nova geração de sofisticadas pectinas com funcionalidades específicas. Além disso, a habilidade em manipular pectina da planta pode ter um maior impacto na fruta, na qualidade do vegetal e processamento, como também na produção de pectina (WILLATS; KNOX; MIKKELSEN, 2006).

Além das propriedades físico-químicas que atraem a atenção para as pectinas, a ingestão de pectinas tem implicações benéficas sobre o organismo humano devido a suas propriedades de fibras solúveis. As pectinas apresentam efeitos prébióticos e apresentam propriedades de promoção à saúde, tais como: redução do colesterol total; diminuição das frações popularmente conhecidas como mau colesterol (LDL) protegendo contra a aterosclerose por melhorar a razão HDL/LDL; redução da absorção de glucose; redução do peso corporal pela imobilização de nutrientes nos intestinos, aumento da sensação de saciedade e diminuição da atividade de certas enzimas, que leva à menor digestão e absorção; ligação a metais pesados e a micro-organismos tóxicos no cólon impedindo a reabsorção das toxinas por estes produzidas (CANTERI *et al.*, 2012).

4. FARINHA DAS SEMENTES DE FRUTAS

O processamento de frutas resulta em uma grande quantidade de resíduos, como por exemplo, cascas e sementes. O descarte desses resíduos torna-se um problema, que atualmente é agravado por restrições ambientais. Assim, os novos aspectos sobre a utilização destes resíduos como subprodutos, tem despertado grande interesse, uma vez que são

produtos que podem apresentar alto valor nutricional e sua reutilização pode ser economicamente atraente (DJILAS; CANADANOVIC-BRUNET; CETKOVIC, 2009).

O subproduto comum no processamento das frutas são as sementes, as quais, segundo Lima *et al.* (2014), apresentam benefícios nutricionais como alto teor de carboidratos, proteínas, atividade antioxidante e ácidos graxos. Parry *et al.* (2006), avaliando sete farinhas de sementes de frutas, sugerem que estas farinhas podem ser utilizadas como fontes de antioxidantes naturais por conter níveis significativos destes compostos.

A caracterização dos componentes bioativos nas farinhas de sementes de frutos tem demonstrado que as suas propriedades benéficas podem resultar na utilização do valor agregado destas farinhas para aumentar a rentabilidade das indústrias de processamento de frutas e dos fabricantes de óleos de sementes (FAZIO *et al.*, 2013).

Vários fitoquímicos detectados em óleos de sementes podem incluir, tocoferóis, carotenóides, compostos fenólicos e ácidos graxos como o ácido α -linolênico. Esse ácido graxo não pode ser sintetizado no organismo humano devendo ser ingerido através da dieta (PARRY *et al.*, 2005). Estudos indicam que óleos de sementes de frutas apresentam níveis significativos de ácido α -linolênico e antioxidantes naturais. Parry; Yu (2004) relataram 35 % de ácido α -linolênico em óleo de semente de framboesa; Fernandes *et al.* (2013) 63,0–73,1 % em óleo de sementes de uva; Parry *et al.* (2005), 32,4 % em óleo de sementes de framboesa vermelha. Estes dados sugerem que os óleos de sementes de frutas podem servir como potenciais fontes de antioxidantes naturais e outros fitoquímicos.

Outro componente importante na composição de óleos são os fosfolipídeos, amplamente presentes em óleos comestíveis, sendo o óleo de soja uma fonte comum. Em óleos vegetais brutos, os fosfolipídeos podem representar 0,1 a 1,8 % do total de lipídeos extraídos (MENG *et al.*, 2014). São moléculas anfifílicas, ou seja, apresentam uma porção polar e uma porção apolar. Essa característica faz com que os fosfolipídeos tenham uma gama muito ampla de aplicações, conferindo-lhe características emulsificantes e umectantes, podendo ser utilizados em diferentes tipos de formulações e segmentos (LI *et al.*, 2014).

5. REFERÊNCIAS

- AGUILAR AGUILAR, R. M.; LOMELÍ, A. P.; GAYTÁN, E. L.; HERNÁNDEZ, J. J. A.; AGUIRRE, D. P. Agrofenología de *Physalis peruviana* L. em invernadero y fertirriego. Revista Chapingo Serie Horticultura. v. 12, n. 1, p. 57-63, México, 2006.
- ALVARADO, P. A., BERDUGO, C. A., FISHER, G. Efecto de um tratamiento a 1,5 °C y dos humedades relativas sobre las características físico-químicas de fruto de uchuva *Physalis peruviana* L. durante el posterior transporte y almacenamiento. Agronomía Colombiana, Bogotá, v. 22 n. 2, p. 147-159, 2004.
- AL-RUQAIE, I. M.; KASAPIS, S.; ABEYSEKERA, Structural properties of pectin-gelatin gels. Part II: effect of sucrose/glucose syrup. Carbohydrate Polymers, v. 34, p. 309, 1997.
- ANDERSON, D. Antioxidant defences against reactive oxygen species causing genetic and other damage. Mutation Research, Amsterdam, v. 350, n. 1, p. 103-108, 1996.
- ANNIE, F.; JAN-JACQUES, M. Phenolic acids in fruits and vegetables. Flavonoids in Health and Disease, 2nd edn. New York, USA: CRC Press, 2003.
- ARAÚJO, J. M. A. Química de Alimentos: Teoria e Prática. 3 ed. rev. – Viçosa: UFV, p. 478, 2004.
- ARRUDA, V. M. de. Avaliação farmacológica das atividades antiinflamatória, analgésica e anti-ulcerogênica do fitoterápico sanativo. Dissertação de mestrado – Universidade Federal de Pernambuco. Ccs. Ciências da saúde. Recife, 2008.
- ASPINALL, G. O. Pectins, plants gums, and other plant polysaccharides in: The Carbohydrates Chemistry and Biochemistry. V. Pigman e D Horton (ed.). New York: Academic Press. v. 2b, p. 515, 1970.
- ÁVILA, J.; MORENO, P.; FISHER, G.; MIRANDA, D. Influencia de la madurez del fruto y del secado del cáliz en uchuva (*Physalis peruviana* L.), almacenada a 18 °C. Acta Agronomica, Colombia, v. 55, n. 4; p. 29-38, 2006.
- BEHLING, E. B.; SENDÃO, M. C.; FRANCESCATO, H. D. C.; ANTUNES, L. M. G.; BIANCHI, M. de L. P. Flavonóide quercetina: aspectos gerais e ações biológicas Alimentos e Nutrição, Araraquara, v. 15, n. 3, p. 285-292, 2004.
- BOWLES, J. D. Defense-related proteins in higher plants. Annual Review of Plant Physiology, v. 59, p. 873-907, 1990.
- CANTERI-SCHEMIN, M. H.; MORENO, L.; WOSIACKI, G.; SCHEER, A. P. Pectina: da Matéria-Prima ao Produto Final. Polímeros, v. 22, n. 2, p. 149-157, 2012.
- CARRASCO, R. R., ZELADA, C. R. E. Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas. Revista de la sociedad química del Perú. v. 74, p. 108-124, 2008.

CARPITA, N. C.; GIBEAUT, D. M. Structural models of primary cell wall in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. *Journal the Plant*, v. 3, p. 1-30, 1993.

CARPITA, N.; McCANN, M. The Cell Wall. In: BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. (Ed.) *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiologists, Rockville, Maryland: Couries Companies, p. 522-89, 2000.

CERUTTI, P. A. Oxidant stress and carcinogenesis. *European Journal of Clinical Investigation*, Oxford, v. 21, n. 1, p. 1-5, 1991.

CERUTTI, P. A. Oxy-radicals and cancer. *Lancet*, London, v. 344, n. 8926, p. 862-863, 1994.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. Pós-colheita de frutas e hortaliça: Fisiologia e Manuseio, 2. ed. Lavras: UFLA, 783p., 2005.

CHOI, E-M; HWANG, J-K. Investigations of anti-inflammatory and antinociceptive activities of Piper cubeba, *Physalis angulata* and Rosa hybrid. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 89, p. 171–175, 2003.

CORPORACIÓN COLOMBIANA INTERNACIONAL. Analisis de los componentes Del precio internacional de La uchuva. *Boletin Precios Internacionales*. n.23. ISSN 0124-1338. Bogotá, 2000.

COLLINS, P. M.; FERRIER, R. J. Monossaccharides: Their Chemistry and Their Role in Natural Products, Chichester: J. Wiley, 547p., 1995.

COUGHALAN, M. P.; HAZLEWOOD, G. P. Hemicellulose and Hemicelluloses. London: Pontland Research Monograf, p. 127-143, 1993.

DAMU, A. G.; KUO, P.; SU, C.; KUO, T.; CHEN, T.; BASTOW, K. F.; LEE, K.; WU, T. Isolation, structures, and structure-cytotoxic activity relationships of withanolides and physalins from *Physalis angulata*. *Journal of natural products*, p. 61, 2007.

DEY, P. M.; HARBORNE, J. B. *Plants Biochemistry*, Academic Press, 553p, 1997.

DIXON, R. A.; ACHNINE, L.; KOTA, P.; LIU, C. J.; REDDY, M. S.; WANG, L. The phenylpropanoid pathway and plant defense – a genomics perspective. *Molecular Plant Pathology*, v. 3, n. 5, p. 371–390, 2002.

DJILAS, S.; CANADANOVIC-BRUNET, J.; CETKOVIC, G. By-products of fruits processing as a source of phytochemicals. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, v. 15, n.4, p. 191-202, 2009.

EL GHARRAS, H. Polyphenols: food sources, properties and applications – a review. *International Journal of Food Science and Technology*, v. 44, p. 2512–2518, 2009.

FAZIO, A.; PLASTINA, P.; MEIJERINK, J.; WITKAMP, R.; GABRIELE, B. Comparative analyses of seeds of wild fruits of *Rubus* and *Sambucus* species from Southern Italy: Fatty

acid composition of the oil, total phenolic content, antioxidant and anti-inflammatory properties of the methanolic extracts. *Food Chemistry*, v. 140, p. 817–824, 2013.

FERNANDES, L.; CASAL, S.; CRUZ, R.; PEREIRA, J. A.; RAMALHOSA, E. Seed oils of ten traditional Portuguese grape varieties with interesting chemical and antioxidant properties. *Food Research International*, v. 50 p. 161–166, 2013.

FISCHER G. Crecimiento y desarrollo. In: FLOREZ, V.J.; FISCHER, G.; SORA, A. Producción, Poscosecha y Exportación de la Uchuva (*Physalis peruviana* L.). Bogotá: Unibiblos, Universidad Nacional de Colombia, p. 9-26, 2000.

FRANCIS, F. J. Anthocyanins and betalains: composition and applications. *Cereal Foods World*, v. 45, p. 208-213, 2000.

FRANCO, L. A., MATIZ, G. E., CALLE, J., PINZÓN, R., OSPINA, L. F. Actividad antiinflamatoria de extractos y fracciones obtenidas de cálices de *Physalis peruviana* L. *Revista Biomédica*, v. 27, p. 110- 115, , 2007.

FONTANNA, J. D., MENDES, S. V., PERSIKE, D. S., PERACETTA, L. F., PASSOS, M. Carotenóides: Cores atraentes e ação biológica. *Revista biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*. n.13, p. 40-45, 2000.

GUIMARÃES, E. T.; LIMA, M. L.; SANTOS, L. A.; RIBEIRO, I. M.; TOMASSINI, T. B. C.; SANTOS, R. R.; SANTOS, W. L. C.; SOARES, M. B. P. Effects of seco-steroids purified from *Physalis angulata* L., Solanaceae, on the viability of *Leishmania sp.* *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 20, n. 6, p. 945-949, 2010.

HALLIWELL, B.; AESCHBACH, R.; LOLIGER, J.; ARUOMA, O. I. The characterization on antioxidants. *Food and Chemical Toxicology*, Oxford, v. 33, n. 7, p. 601-617, 1995.

HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutrition Reviews*, New York, v. 52, n. 8, p. 253-265, 1994.

HAMINIUK, C. W. I.; MACIEL, G. M.; PLATA-OVIEDO, M.; PERALTA, R. M. Phenolic compounds in fruits – an overview. *International Journal of Food Science and Technology*, n. 47, p. 2023–2044, 2012.

HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, v. 55, n. 6, p. 481-504, 2000.

HERRMANN, K. M.; WEAVER, L. M. The shikimate pathway. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, v. 50, p. 473–503, 1999.

HEIM, K. E., TAGLIAFERRO, A. R., BOBILYA, D. J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*. v. 13, p. 572-584, USA, 2002.

HSIEH, W-T.; HUANG, K-Y.; LIN, H-Y; CHUNG, J-G. *Physalis angulata* induced G2/M phase arrest in human breast cancer cells. *Food and Chemical Toxicology*. n. 44, p. 974-983, 2006.

HWANG, J.; KOKINI, J. L. Contribution of the side branches to rheological properties of pectins. *Carbohydrate Polymers*, n. 19, p. 41-50, 1992.

HOPIA, A.; HEINONEN, M. Antioxidant activity of flavonol aglycones and their glycosides in methyl linoleate. *Journal of the American Oil Chemists Society*, v. 76, p. 139–144, 1999.

IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, V. I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry*, v. 126, p. 1821–1835, 2011.

JÁUREGUI, A. M. M.; RAMOS-ESCUADERO, D. F.; ALVARADO-ORTIZ, C. U.; CASTAÑEDA, B. C. Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en recursos vegetales promisorios. *Revista de la Sociedad Química del Perú*. v. 73, n. 3, p. 142-149, 2007.

KAUR, C.; KAPOOR, H. C. Antioxidants in fruits and vegetables – the millennium's health. *International Journal of Food Science and Technology*, n. 36, p. 703–725, 2001.

KOBAYASHI, H.; WANG, C.; POMPER, K. W. Phenolic content and antioxidant capacity of pawpaw fruit (*Asimina triloba* L.) at different ripening stages. *Hort Science*, v. 43, p. 268–270, 2008.

LI, J.; WANG, X.; ZHANG, T.; WANG, C.; HUANG, Z.; LUO, X.; DENG, Y. A review on phospholipids and their main applications in drug delivery systems. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajps.2014.09.004>, 2014.

LIMA, C. R.; COSTA-SILVA, J. H.; LYRA, M. M. A.; ARAÚJO, A. V.; ARRUDA, V. M.; DIMECH, G. S.; EVÊNCIO, L. B.; FRAGA, M. C. C. A.; LAFAYETTE, S. S. L.; WANDERLEY, A. G. Atividade Cicatrizante e Estudo Toxicológico Pré-Clínico do Fitoterápico Sanativo®. *Acta Farmaceutica Bonaerense*, v. 25, n. 4, p. 544-9, 2006.

LIMA, B. N. B.; LIMA, F. F.; TAVARES, M. I. B.; COSTA, A. M. M.; PIERUCCI, A. P. T. R. Determination of the centesimal composition and characterization of flours from fruit seeds. *Food Chemistry*, v. 151, p. 293–299, 2014.

LODOVICI, M.; GUGLIELMI, F.; MEONI, M.; DOLARA, P. Effect of natural phenolic acids on DNA oxidation *in vitro*. *Food and Chemical Toxicology*, v. 39, p. 1205–1210, 2001.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. Plantas medicinais no Brasil nativas e exóticas. Ed. 1. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2002.

LOZANO, J. E.; IGLESIAS, M. T. Extraction and characterization of sunflower pectin. *Journal Food Engineering*, v. 62, n. 3, p. 215-223, 2004.

MAGALHÃES, H. I. F. Atividade antitumoral (*in vitro* e *in vivo*) das fisalinas isoladas de *Physalis angulata* Lin. Dissertação de Mestrado em Farmacologia, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal do Paraná, 2005.

MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; REMESY, C.; JIMENEZ, L.. Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 79, p. 727–747, 2004.

MENG, X.; PAN, Q.; DING, Y.; JIANG, L. Rapid determination of phospholipid content of vegetable oils by FTIR spectroscopy combined with partial least-square regression. *Food Chemistry*, v. 147, p. 272–278, 2014.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Acesso em 05 março 2014 - <http://www.mma.gov.br/biodiversidade/biodiversidade-brasileira>), 2014.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. (Brasil). Secretaria de atenção à Saúde. Coordenação Geral da Política de Alimentação e Nutrição. Guia Alimentar da população brasileira: promovendo a alimentação saudável. Normas e Manuais Técnicos. Brasília, 2006.

MOON, Y. J.; WANG, X.; MORRIS, M. E. Dietary flavonóides: Effects on xenobiotic and carcinogen metabolism. *Toxicology in vitro*, v. 20, p. 187-210, 2006.

MUNIZ, J.; KRETZSCHMAR, A. A.; RUFATO, L.; PELIZZA, T. R.; MARCHI, T.; DUARTE, A. E.; LIMA, A. P. F.; GARANHANI, F. Sistemas de condução para o cultivo de *Physalis* no planalto catarinense. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, SP, v. 33, n. 3, p. 830-838, 2011.

NURIT SILVA, K.; AGRA, M. F. Estudo farmacobotânico comparativo entre *Nicandra physalodes* e *Physalis angulata* (*Solanaceae*). *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 15, n. 4, p. 344 – 351, 2005.

OLIVEIRA, J. A. R.; MARTINS, L. H. S.; VASCONCELOS, M. A. M.; PENA, R. S.; CARVALHO, A. V. Caracterização física, físico-química e potencial tecnológico de frutos de Camapu (*Physalis angulata* L.). *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, v. 5, n. 2, p. 573-583, 2011.

PARRY, J.; SU, L.; MOORE, J.; CHENG, Z.; LUTHER, M.; RAO, J. N.; WANG, J.; YU, L. L. Chemical Compositions, Antioxidant capacities, and antiproliferative activities of selected fruit seed flours. *Journal Agricultural Food Chemistry*, v. 54, p. 3773–3778, 2006.

PARRY, J. W.; YU, L. Fatty acid content and antioxidant properties of cold-pressed black raspberry seed oil and meal. *Journal Food Science*, v. 69, p. 189-193, 2004.

PEDISIC, S.; LEVAJ, B.; DRAGOVIC-UZELAC, V.; KOS, K. Physicochemical composition, phenolic content and antioxidant activity of sour cherry cv. Marascaduring ripening. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, v. 72, p. 295–300, 2007.

PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*. v. 63, p. 1035-1042, 2000.

PIETRO, R. C. L. R.; KASHIMA, S.; SATO, D. N.; JANUARIO, A. H.; FRANÇA, S. C. In vitro antimycobacterial activities of *Physalis angulata* L. *Phytomedicine*, v. 7, p. 335-338, 2000.

POMPELLA, A. Biochemistry and histochemistry of oxidant stress and lipid peroxidation. *International Journal of Vitamin and Nutrition Research*, Bern, v. 67, n. 5, p. 289-297, 1997.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. *Biologia Vegetal*, 6 ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 61-71, 2001.

ROBARDS, K.; ANTOLOVICH, M. Analytical chemistry of fruit bioflavonoids: a review. *Analyst*, v. 122, n. 2, p. 11R-34R, 1997.

ROBARDS, K.; PRENZLER, P. D.; TUCKER, G.; SWATSITANG, P.; GLOVER, W. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, v. 66, p. 401-436, 1999.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Flavonóis e flavonas: fontes brasileiras e fatores que influenciam a composição em alimentos. *Alimentos e Nutrição*, Araraquara v. 19, n. 1, p. 97-108, 2008.

ROLIN, C.; NIELSEN, B. U.; GLAHN, P. E. Pectin. In S. Dimitrin, & M. Dekker (Eds.), *Polysaccharides, structural diversity and functional versability*. London: Marcel Dekker, p. 377-431, 1998.

RUFATO, L.; ROSSI, A.; SCHLEMPER, C.; LIMA, C. S. M.; KRETZSCHMAR, A. A. *Aspectos técnicos da cultura da Physalis*. 1. ed. v. 1. 100 p. Lages: CAV/UDESC, 2008.

SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *Journal of Nutrition*, v. 130, p. 2073-2085, 2000.

SHAHIDI, F. Antioxidants: extraction, identification, application and efficacy measurement. *Electronic journal of environmental, agricultural and food chemistry*, v. 7, p. 3325-3330, 2008.

SIES, H. Strategies of antioxidant defence. Review. *European Journal of Biochemistry*, Berlin, v. 215, n. 2, p. 213- 219, 1993.

SILVA, K. N.; AGRA, M. F. Estudo farmacobotânico comparativo entre *Nicandra physalodes* e *Physalis angulata* (Solanaceae). *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 15, n. 4, p. 344-351, 2005.

SILVA, M. T. G.; MARQUES, G. H.; RIBEIRO, I. M.; SANCHES, E. G.; TOMASSINI, T. C. B. Evaluation of the bacteria inhibitory profile between native Belém do Pará and Rio de Janeiro cultivated *P. angulata* L. Species against *S. aureus*, *E. Coli*, *K. Pneumoniae*. *Bolletino Chimico Farmacêutico*, v. 2, p. 138, 1999.

SILVA, M. T. G.; SIMAS, S. M.; BATISTA, T. G. F. M.; CARDARELLI, P.; TOMASSINI, T. C. B. Studies on antimicrobial activity, in vitro, of *Physalis angulata* L. (solanaceae) fraction and physalin b bringing out the importance of assay determination. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 100, n. 7, p. 779-782, 2005.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. *Revista Nutrição*. Campinas, v. 15, p. 71-81, 2002.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. *Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado em apg ii*. Nova Odessa, SP: instituto Plantarum, 2005.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Metabolitos Secundários e defesa vegetal*. In: *Fisiologia vegetal*. Tradução: Eliane Romanato Santarém *et al.* – 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

TOMASSINI, T. C. B; BARBI, N. S.; RIBEIRO, I. M.; XAVIER, D. C. D. Gênero *Physalis* – Uma revisão sobre vitaesteróides. *Química Nova*, v. 23, n. 1, p. 47-57, 2000.

TSAO, R.; YANG, R. Optimization of a new mobile phase to know the complex and real polyphenolic composition: towards a total phenolic index using high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, v. 1018, p. 29–40, 2003.

VALDAMERI, G. Efeitos da flavona sobre o metabolismo mitocondrial. Dissertação de Mestrado em Ciência-Bioquímica, Universidade Federal do Paraná, 2008.

VASCO, C.; RUALES, J.; KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chemistry*, v. 111, p. 816-823, 2008.

VAN BUREN, J. P. The chemistry of texture in fruits and vegetables. *Journal of Texture Studies*, v. 10, n. 1, p. 1-23, 1979.

VERMERRIS, W.; NICHOLSON, R. Families of phenolic compounds and means of classification. *Phenolic Compound Biochemistry*. Berlin: Springer, p. 1–34, 2006.

VORAGEN, A. G. J. *et al.* Pectins. In: STEPHEN, A. M. (Ed.). *Food Polysaccharides and Their Applications*. New York: Marcel Dekker, p. 287-340, 1995.

YU, T-W., ANDERSON, D. Reactive oxygen species induced DNA damage and its modification: a chemical investigation. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 379, n. 2, p. 201-210, 1997.

WEIJL, N. I.; CLETON, F. J.; OSANTO, S. Free radicals and antioxidants in chemotherapy-induced toxicity. *Cancer Treatment Reviews*, London, v. 23, n. 4, p. 209- 240, 1997.

WINKEL-SHIRLEY, B. Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. *Plant Physiology*, v. 126, n. 2, p. 485 – 493, 2001.

WILKIE, K. C. B. The hemicelluloses of grasses and cereals. *Carbohydrate Chemistry Biochemistry*. San Diego, v. 36, p. 215-264, 1979.

WILLATS, W. G. T.; KNOX, J. P.; MIKKELSEN, J. D. Pectin: New insights into an old polymer are starting to gel. *Trends in Food Science & Technology*, v. 17, p. 97-103, 2006.

WHO. World Health Organization. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of joint WHO/FAO expert consultation, 2003a.

WHO. World Health Organization. Fruit and Vegetable Promotion Initiative - report of meeting, 25-27, 2003b.

WU, S-J; NG, L-T; CHEN, C-H; LIN, D-L; WANG, S-S; LIN, C-C. Antihepatoma activity of *Physalis angulata* and *P. peruviana* extracts and their effects on apoptosis in human Hep G2 cells. *Life Sciences*, v. 74, p. 2061–2073, 2004.

CAPÍTULO 2

ÁCIDOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS FRUTOS *Physalis*
angulata L. EM DOIS ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO

ÁCIDOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS FRUTOS *Physalis angulata* L. EM DOIS ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO

Ana Mery de Oliveira-Camlofski^a, Rosemary Hoffmann Ribani^b, Lovemore Nkhata Malunga^c, Trust Beta^{d,e}

^{a,b} Programa de Engenharia de Alimentos – PPGEAL, Universidade Federal do Paraná, 81531-980 Curitiba, Pr, Brasil

^{c,d} Departamento de Ciência de Alimentos, Universidade de Manitoba, Winnipeg, Canadá, R3T2N2

^e Richardson Centre for Funcional Foods and Nutraceuticals, Smartpark, University of Manitoba, Winnipeg, Canada, R3T 6C5

RESUMO

Physalis angulata L. é um fruto climatérico, exótico, pertencente à família Solanaceae nativo da Amazônia, pouco explorado em estudos científicos. Espécies dessa família apresentam uma longa lista de constituintes químicos de interesse biológico, dentre eles destacam-se: ácidos fenólicos e flavonóides. O objetivo deste estudo foi determinar os perfis de ácidos fenólicos solúveis e insolúveis, teor de fenólicos totais e atividade antioxidante em dois estádios de maturação dos frutos de *P. angulata*, comparando os dados obtidos com frutos maduros da variedade *Physalis peruviana*. O ácido fenólico predominante nos frutos de *P. angulata* foi o ácido ferúlico, para a fração solúvel (9,00 e 10,00 mg.100g⁻¹) e insolúvel (17,00 e 13,00 mg.100g⁻¹) e para o fruto verde e maduro, respectivamente. O fruto apresentou níveis significativos de compostos fenólicos e propriedades antioxidantes nos extratos metanólicos durante a maturação (9,8 % e 10,15 %, respectivamente). Os frutos maduros de *P. angulata* apresentaram valores de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante pelo método DPPH• maiores do que os relatados para frutos maduros de *Physalis peruviana*, fruta da família Solanaceae cujo consumo e comercialização são mais incentivados apesar de não ser nativo do Brasil. Considerando o teor de ácido fenólico, em frutos de *P. angulata*, este pode ser considerado um alimento potencialmente funcional.

Palavras-chave: *Physalis angulata* L., ácidos fenólicos, compostos fenólicos totais, atividade antioxidante.

PHENOLIC ACIDS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY FROM FRUITS OF *Physalis angulata* L. IN TWO STAGES OF MATURATION

Ana Mery de Oliveira-Camlofski^a, Lovemore N. Malunga^b, Rosemary H. Ribani^a, Trust Beta^c

^a Graduate Program in Food Engineering, Department of Chemical Engineering, Paraná Federal University, 81531-980 Curitiba, PR, Brazil.

^{b,c} Department of Food Science, University of Manitoba, Winnipeg, Canadá, R3T2N2

^c Richardson Centre for Functional Foods and Nutraceuticals, Smartpark, University of

ABSTRACT

Physalis angulata L. is a climacteric and exotic fruit of the family Solanaceae, originally from Amazon, and spontaneously growing in all Brazilian territory, which is still little explored from a scientific point of view. Species of this family contain several chemical constituents of biological interest, such as phenolic acids and flavonoids. The current objective was to determine the profiles of soluble and insoluble phenolic acids, total phenolic content and antioxidant activity at two stages of maturation of fruits of *P. angulata*. The predominant phenolic acid in the fruits of *P. angulata* was found to be ferulic acid both for the soluble (9.00, 10.00 mg.100g⁻¹) and insoluble (17.00, 13.00 mg.100g⁻¹) fractions (green and ripe fruit respectively). The fruit showed significant levels during maturation with methanolic extracts of phenolic compounds and antioxidant properties increasing by 9.8 % and 10.15 %, respectively. The ripe fruits of *P. angulata* showed values of total phenolic compounds and antioxidant activity by the method DPPH[•] was higher than those found in ripe *Physalis peruviana*, a fruit of the Solanaceae family whose consumption and marketing are more encouraged despite not native from Brazil. Considering the phenolic acid content in fruits of *P. angulata*, this may be considered as a potentially functional food.

Keywords: *Physalis angulata* L., phenolic acids, total phenolic compounds, antioxidant capacity.

1. INTRODUÇÃO

Os antioxidantes naturais, oriundos de frutas e vegetais têm despertado interesse crescente entre os consumidores e a comunidade científica, porque estudos epidemiológicos indicam que o consumo frequente dessas substâncias naturais está associado a um menor risco de doenças cardiovasculares. Os efeitos de defesa de antioxidantes naturais em frutas e vegetais estão relacionados a três grandes grupos: vitaminas, compostos fenólicos e carotenóides. O ácido ascórbico e os compostos fenólicos são conhecidos como antioxidantes hidrofílicos, enquanto que os carotenóides são conhecidos como antioxidantes lipofílicos (HALLIWELL, 1996).

O gênero *Physalis* sp. pertence à família Solanaceae e ocorre principalmente nos climas temperados, subtropical e quente. As espécies comumente encontradas são *Physalis angulata* L. (*P. angulata*), fruto nativo do Brasil e *Physalis Peruviana* (*P. peruviana*), cultivado comercialmente no Rio Grande do Sul (LORENZI; MATOS 2002; CARRASCO; ZELADA, 2008). As espécies desse gênero apresentam uma longa lista de constituintes químicos, o que tem despertado o interesse dos consumidores, incluindo compostos fenólicos representados principalmente por ácidos fenólicos e flavonóides simples ou glicosilados (kaempferol, quercetina, rutina), ácido ascórbico, carotenóides, alcalóides e vitaesteróides (TOMASSINI *et al.*, 2000; SILVA; AGRA, 2005).

Uma das ações propostas para os compostos fenólicos é atuar como sequestradores de ânions superóxidos, atribuindo poder de redução antioxidante ao grupo hidroxila do anel aromático, que estabiliza espécies reativas de oxigênio ou decompõe os peróxidos produzindo radicais fenoxi menos reativos (NIJVELDT *et al.*, 2001). A literatura reporta benefícios farmacológicos relacionados a este gênero como atividade antitumoral (MAGALHÃES, 2005), anti-inflamatória, antimicrobiana (TOMASSINI *et al.*, 2000; GUIMARÃES *et al.*, 2010), antiparasitário, antiviral (LIMA *et al.*, 2006) e o seu uso popularmente conhecido para problemas urinários, asma e reumatismo.

Os ácidos fenólicos presentes na forma solúvel e insolúvel identificados em várias frutas apresentam correlação com a atividade antioxidante (KING; YOUNG, 1999; HOLMMAN; ARTS, 2000; SOARES, 2002; EINBOND *et al.* 2004). Porém, há variações no conteúdo desses compostos encontrados em diferentes frutas e vegetais (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006), decorrentes da complexidade desses compostos, métodos de extração ou quantificação (TOMÁS-BARBERAN; ESPÍN, 2001). Neste contexto o Brasil, com produção

elevada de diferentes variedades de frutíferas nativas ou exóticas, apresenta potencial para exploração econômica.

O fruto de *P.angulata* (FIGURA 1), nativo da América do Sul, é uma espécie com fácil adaptação ecológica e grande potencial para o cultivo comercial e produção no Brasil (ALVARADO *et al.*, 2004; MAGALHÃES, 2005; MUNIZ *et al.*, 2013). É classificada como uma espécie tolerante, devido à sua adaptação a diferentes tipos de solo e climas temperados (FISHER, 2000). Popularmente conhecido como camapu, é um fruto climatérico recoberto por um cálice que serve para protegê-lo de condições ambientais adversas, sendo suspenso por uma haste que mantém suas flores amarelas (ALVARADO *et al.*, 2004; MAGALHÃES, 2005). Quando maduro, apresenta um diâmetro entre 1,0 a 1,5 cm, com numerosas sementes pequenas. Sua reprodução é por sementes, apresentando ciclo anual e crescendo espontaneamente na forma de pequenas populações; por isso, é considerado uma erva daninha infestante de culturas agrícolas e terrenos baldios (LORENZI; MATOS, 2002).

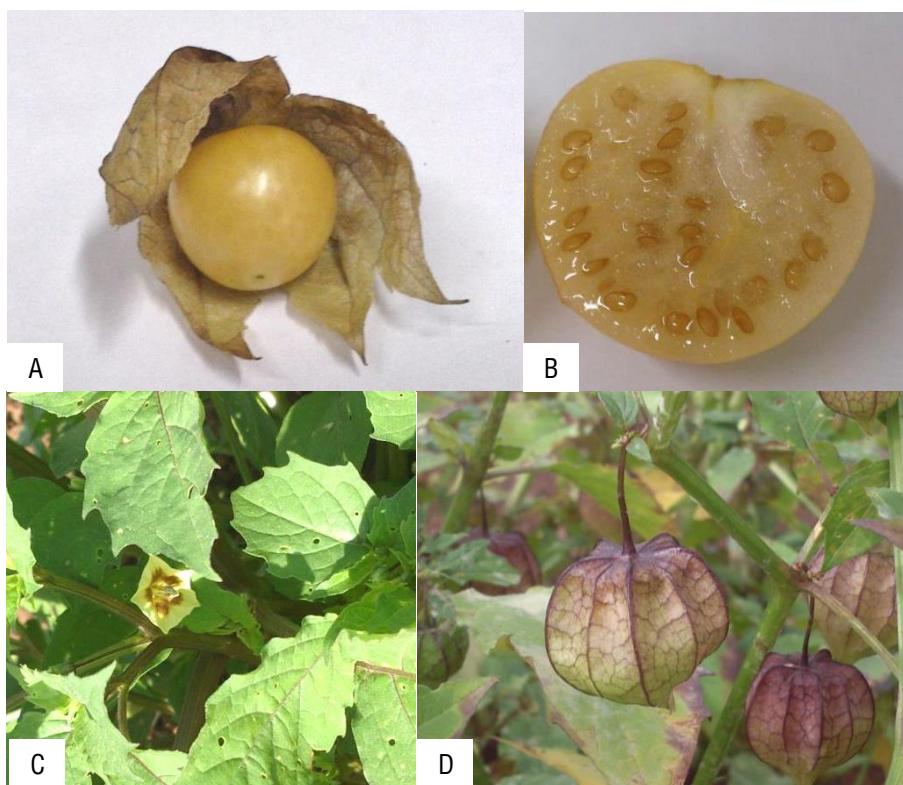


FIGURA 1 – *Physalis angulata* L. (A = fruto; B = fruto aberto; C = Flor; D = Cálice)

FONTE: AUTOR

Na literatura atual, não foram reportadas informações sobre a composição fenólica de frutos de *Physalis angulata* L., e sobre a mudança desses bioativos no processo de maturação.

O objetivo deste estudo foi avaliar o perfil de ácidos fenólicos solúveis e insolúveis por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), o teor de compostos fenólicos totais e verificar

a atividade antioxidante pelo método DPPH[•] nos frutos de *Physalis angulata* L. em dois estádios de maturação.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. FRUTOS

2.1.1. *Physalis angulata* L.

Os frutos de *P.angulata* foram plantados e coletados na estação experimental da Universidade Federal do Paraná, localizada em Quatro Barras, Região Metropolitana de Curitiba, a 25° 17' 30" de latitude sul e 49°13'27" de longitude oeste, altitude de 930 metros e clima classificado por Köppen de Cfb (IAPAR, 1994).

Os frutos foram colhidos manualmente 80 dias após o plantio (nos meses de março e abril) e classificados visualmente em dois estádios de maturação de acordo com a intensidade da coloração do epicarpo dos frutos da seguinte forma: verde, quando o epicarpo estava totalmente verde e maduro, quando o epicarpo estava totalmente amarelo-roxo ou amarelo. Em seguida, foram congelados (-18 °C), liofilizados e embalados a vácuo.

A exsicata da planta *P.angulata* foi depositada no Museu Botânico de Curitiba (Paraná-Brasil) sob o número 384015.

2.1.2. *Physalis peruviana*

Os frutos maduros comerciais de *Physalis peruviana*, utilizados como amostra de comparação neste estudo, sendo adquiridos no seasa de Curitiba em Junho de 2013. Os frutos foram congelados (-18 °C), liofilizados e embalados a vácuo.

2.2. PADRÕES E SOLVENTES

Reagente fenólico de Folin-Ciocalteu, 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH[•]), ácido gálico, ácido acético, metanol grau cromatográfico e os padrões de ácidos fenólicos (gálico, protocatecuico, hidroxibenzóico, vanílico, cafeico, sirínico, *p*-cumárico, ferúlico, sinápico) foram todos adquiridos de Sigma-Aldrich Chemical Co.

2.3. EXTRAÇÃO

2.3.1. Extração da fração solúvel (FS) e fração insolúvel (FI) dos ácidos fenólicos

As frações solúvel (FS) e insolúvel (FI) dos ácidos fenólicos foram extraídas de acordo com o método descrito por Matilla; Kumpulainen (2002), com pequenas modificações. Simplificadamente, 7 mL de uma mistura de metanol (contendo 2 g.L⁻¹ de 2, (3)-terc-butil-4-hidroxi-anisol (BHA) e ácido acético a 10 % (85:15) foram adicionados a 2,5 g de amostra liofilizada, homogeneizada usando agitador (modelo shaker ação de pulso 75 - Burrell). A extração foi realizada usando sonicador Branson 5510 (Branson Ultrasonics Corp., Danbury, CT, E.U.A) por 30 min a 25 ± 3 °C. Posteriormente 3 mL de água destilada foi adicionada e misturada em vortex. Dessa solução, 1 mL foi filtrado (membrana 0,45 µm, 25 mm; Pall Gelman Laboratory) para identificação e quantificação dos ácidos fenólicos da FS por HPLC.

Depois de coletar a amostra para a análise de ácidos fenólicos livres, 12 mL de água destilada e 5 mL de hidróxido de sódio (NaOH) 10 M foram adicionados ao extrato aquoso restante. A essa mistura foi adicionado nitrogênio (N₂), para evitar a oxidação dos compostos, agitada *overnight* (± 16h) a 25 ± 3 °C utilizando um agitador rotativo (Allentown, PA-18103). Após este período, o pH do extrato foi ajustado para 2 e os ácidos fenólicos liberados foram extraídos com 3 porções de 15 mL de uma mistura gelada de dietil éter e acetato de etila (1:1), sendo as frações orgânicas recolhidas e combinadas.

Depois da hidrólise alcalina, o extrato aquoso foi submetido à hidrólise ácida por 30 min a 85 °C adicionando-se 2,5 mL de ácido clorídrico (HCl) concentrado. Posteriormente, a amostra foi resfriada, e o mesmo procedimento da extração orgânica utilizado na hidrólise alcalina foi realizado. As fases orgânicas da hidrólise alcalina e ácida foram rotoevaporadas e dissolvidas em 1,5 mL de metanol. Em seguida, foram filtradas (membrana 0,45 µm, 25 mm; Pall Gelman Laboratory) e analisadas por HPLC para identificação e quantificação dos ácidos fenólicos da FI.

2.3.2. Extração metanólica

A extração metanólica foi realizada adicionando-se 12,5 mL de metanol em 2,5 g de amostra seguida de homogeneização durante 15 min com agitador magnético. Em seguida, os extratos foram armazenados no escuro por 24 h a 4 °C. Posteriormente, os extratos foram centrifugados a 5000 rpm por 20 min (CARRASCO; ZELADA, 2008). O sobrenadante foi

removido e utilizado para as análises de compostos fenólicos totais (CFT) e atividade antioxidante pelo método DPPH[•].

2.4. DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (CFT)

Os compostos fenólicos totais foram determinados pelo método de Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ROSSI, 1965) modificado por Gao *et al.* (2002). Resumidamente, a 200 µL do extrato (item 2.3.2) adequadamente diluído foi adicionado 1,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu (1:10), 1,5 mL de uma solução de carbonato de sódio (60 g.L⁻¹) e homogeneizado em vortex. Após 120 min de reação no escuro a 25 ± 3 °C, a absorbância foi medida a 725 nm. O ácido gálico foi utilizado como padrão e os resultados foram expressos em mgAGE.100g⁻¹ fruto liofilizado.

2.5. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DPPH[•]

A análise da atividade antioxidante baseou-se no método descrito por Brand-Williams; Cuvelier; Berset (1995), com modificações por Anton *et al.* (2008). Resumidamente, 3,9 mL de solução metanólica de radical DPPH[•] 60 µM foram adicionados a 100 µL de extrato puro (item 2.3.2). Após 30 min de incubação no escuro a 25 ± 3 °C, a absorbância foi medida em 515 nm. Os resultados foram expressos como equivalentes µmol de Trolox equivalente (TEAC) por g de fruto liofilizado.

2.6. ANÁLISE DOS ÁCIDOS FENÓLICOS POR HPLC

A separação cromatográfica foi realizada em HPLC Waters 2695 (Waters Corp, Milford, MA, EUA), equipado com um detector *photodiodearray* (PDA) Waters 996 (Waters Corp) e um auto-amostrador Waters 717 plus (Waters Corp). A coluna analítica utilizada foi uma Phenomenex - Gemini - C-18; 110 A (150 x 4,60 mm - 5 µm). Durante as análises, 10 µL de amostra foram injetadas por meio do amostrador automático. O gradiente utilizado neste estudo foi decorrente de modificação do método descrito por Guo, Beta (2013). As amostras foram eluídas através da coluna com um gradiente de fase móvel A (0,1 % (v / v) de ácido trifluoroacético (TFA) em água) e B (0,1 % (v / v) de ácido trifluoroacético (TFA) em metanol com fluxo de 0,7 mL/min. Um gradiente de eluição de 70 min foi programado como segue: 0–11 min, 9–14 % B; 11–14 min, 14–15 % B; 14–17 min, 15–15 % B; 17–24 min, 15–16,5 % B; 24–28 min, 16,5–19 % B; 28–30 min, 19–25 % B; 30–36 min, 25–26 % B; 36–38min, 26–28 %

B; 38–41 min, 28–35 % B; 41–46 min, 35–40 % B; 46–48 min, 40–48 % B; 48–53 min, 48–53 % B; 53–65 min, 53–70 % B; 65–66 min, 70–9 % B; 66–70 min, 9 % B. As temperaturas da coluna e da amostra foram mantidas a 20 °C.

A identificação de ácidos fenólicos nas amostras foi realizada utilizando a adição de uma mistura de padrões com concentração conhecida nas amostras e através do tempo de retenção dos padrões utilizados. A quantificação de ácidos fenólicos baseou-se na área de pico, em um comprimento de onda de 280 e 325 nm, usando as respectivas curvas padrões geradas pelos padrões de ácidos fenólicos utilizados.

2.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados pelo teste de variância (ANOVA), em triplicata, utilizando o software estatístico SAS, versão 9.2 (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA). O teste Tukey ($p < 0,05$) foi usado para reportar diferenças significativas entre médias para as amostras. Os resultados foram reportados como média \pm desvio padrão da média.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS ÁCIDOS FENÓLICOS SOLÚVEIS E INSOLÚVEIS EM FRUTOS DE *Physalis angulata* L. POR HPLC.

O perfil cromatográfico das amostras dos frutos de *P. angulata* nos dois estádios de maturação (verde e maduro) apresentado na FIGURA 2.

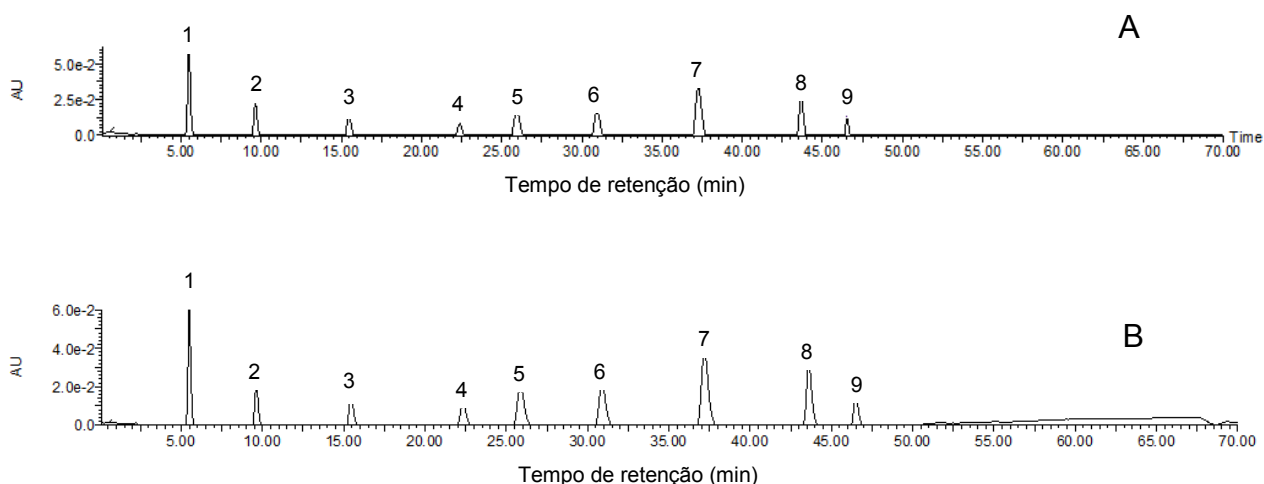


FIGURA 2 – PERFIL CROMATOGRÁFICO OBTIDO POR HPLC: (A) FRUTO VERDE; (B) FRUTO MADURO FS.

Nota - Os ácidos fenólicos identificados pela adição de padrões sobre nas amostras são: pico 1: gálico; 2: protocatecuico; 3: *p*-hidroxibenzóico; 4: vanílico; 5: cafeico; 6: siríngico; 7: *p*-cumárico; 8: ferúlico; 9: sinápico. Condições cromatográficas descritas no item 2.6.

A partir do tempo de retenção e das áreas cromatográficas dos padrões e das amostras, foi possível identificar e quantificar os ácidos fenólicos presentes em frutos de *P. angulata* que estão apresentados na TABELA 1. Pode-se observar uma tendência de decréscimo no conteúdo dos ácidos fenólicos do fruto verde para o fruto maduro, com exceção do ácido *p*-cumárico (FS e FI) e ferúlico para a FS. Segundo Gruz *et al.* (2011), isso ocorre devido às reações de oxidação na fração solúvel. Este decréscimo também pode estar relacionado à utilização destes ácidos como fonte de energia no processo respiratório celular e/ou como fonte de carbono na síntese de açúcares e outros compostos. O conteúdo de compostos fenólicos também é afetado pelas condições ambientais, de armazenamento, processamento e pós-colheita (SHAHIDI; NACZK, 2004).

TABELA 1 –ÁCIDOS FENÓLICOS NAS FRAÇÕES SOLÚVEL (FS) E INSOLÚVEL (FI) NOS DOIS ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO EM FRUTOS DE *Physalis angulata* L. E FRUTOS MADUROS DE *Physalis peruviana*.

Ácidos fenólicos	<i>Physalis angulata</i> L.				<i>Physalis peruviana</i>	
	FRUTO VERDE		FRUTO MADURO		FRUTO MADURO	
	FS	FI	FS	FI	FS	FI
Gálico	0,70 ± 0,02	*nd	nd	nd	nd	nd
Protocatecuico	11,00 ± 0,14	nd	0,80 ± 0,01	nd	nd	nd
<i>p</i> -hydroxibenzóico	34,00 ± 1,87	nd	2,00 ± 0,02	nd	nd	nd
Vanílico	5,00 ± 0,18	2,00 ± 0,06	1,00 ± 0,01	nd	nd	4,00 ± 0,04
Cafeico	10,00 ± 0,06	2,00 ± 0,02	1,00 ± 0,02	2,00 ± 0,01	nd	11,00 ± 0,01
Siríngico	1,00 ± 0,01	nd	nd	nd	3,00 ± 0,09	nd
<i>p</i> -cumárico	4,00 ± 0,01	1,00 ± 0,01	6,00 ± 0,05	2,00 ± 0,01	nd	nd
Ferulico	9,00 ± 0,01	17,00 ± 0,01	10,00 ± 0,01	13,00 ± 0,01	5,00 ± 0,01	12,00 ± 0,02
Sinápico	9,00 ± 0,03	5,00 ± 0,01	2,00 ± 0,03	nd	nd	1,00 ± 0,01

FS = Fração Solúvel; FI = Fração Insolúvel. Valores são médias ± desvio padrão. Teor de ácidos fenólicos são expressos em mg. 100g⁻¹ de polpa liofilizada. *nd = Não detectado

Na FS do fruto verde, dentre todos os ácidos fenólicos analisados predominou o ácido *p*-hidroxibenzóico (34 mg.100g⁻¹), com redução de 94 % para FS no amadurecimento. Em menor quantidade aparecem os ácidos gálico, vanílico e sirínico (0,7; 5 e 1 mg.100g⁻¹) na FS do fruto verde, permanecendo apenas 20 % do ácido vanílico no fruto maduro.

O ácido predominante no fruto maduro de *P. angulata* foi o ácido ferúlico. Pode-se observar que esse ácido foi o único mantido durante o processo de amadurecimento do fruto, sendo que na FI em ambos os estádios de maturação apresentou sua maior concentração (17 mg.100g⁻¹ para o fruto verde e 13 mg.100g⁻¹ para o fruto maduro). É o derivado de ácido cinâmico característico de cereais, constituindo a principal fonte desse ácido (FARDET; ROCK; RÉMÉSY, 2008). Segundo Zhao; Moghadasian (2008), altos níveis de ácido ferúlico são encontrados em ambas as formas (livre e esterificada) em vegetais, frutas, cereais e café. Resultados similares foram encontrados por Zhang *et al.* (2014), He *et al.* (2011) e Boco *et al.* (1998) em que o ácido ferúlico é o ácido cinâmico predominante em frutas cítricas.

Os dados obtidos para FS e FI no fruto maduro, corroboram com Meyer *et al.* (1998), em que os autores afirmam que as frutas representam uma significativa fonte de derivados de ácidos cinâmico, em grande parte composta por ácidos ferúlico, sinápico, *p*-coumárico e cafeico.

Pode ser observado comparando as duas variedades de *Physalis* (TABELA 1) que o ácido predominante foi o ácido ferúlico, em ambas as frações, destacando-se também no fruto de *P. peruviana* o ácido cafeico (11 mg.100g⁻¹) na FI. Esses dados diferem de Rockenbach *et al.* (2008a), em que os autores não detectaram ácido ferúlico para *P. peruviana* na fração livre e encontraram 8 mg.100g⁻¹ na fração insolúvel. O ácido cafeico não foi relatado

Segundo Bourne; Rice-Evans (1998), que investigaram a biodisponibilidade do ácido ferúlico em humanos a partir da ingestão de tomate, através do monitoramento farmacocinético da excreção em relação à ingestão, a absorção do ácido ferúlico (livre e esterificado) dos voluntários foi de 89–75 % do total ingerido.

3.2. DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (CFT) E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE (DPPH•) NAS FS E FI DOS EXTRATOS DE ÁCIDO FENÓLICO DE *Physalis*.

A TABELA 2 apresenta o conteúdo dos compostos fenólicos totais (CFT) obtidos nas FS e FI dos extratos de ácido fenólico do fruto de *P. angulata* nos dois estádios de maturação. Observou-se que o fruto maduro de *P. angulata* apresentou maior conteúdo de fenólicos totais

na FS (3847,72 mg.100g⁻¹), quando comparado com o fruto verde, havendo diferença significativa entre as amostras. Quando são comparadas as duas variedades de *Physalis* no estado maduro, os valores de CFT não apresentaram diferença significativa entre as amostras.

TABELA 2 - CONTEÚDO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (CFT) NAS FRAÇÕES SOLÚVEL E INSOLÚVEL NOS DOIS ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO EM FRUTOS DE *Physalis angulata* L. COMPARANDO COM FRUTOS DE *Physalis peruviana*.

FRAÇÕES	<i>Physalis angulata</i>		<i>Physalis peruviana</i>
	VERDE	MADURO	MADURO
FS	798,08 ± 2,87 ^a	749,1 ± 3,29 ^a	858,18 ± 3,18 ^a
FI	2832,02 ± 3,37 ^b	3847,72 ± 3,61 ^a	3559,1 ± 6,32 ^a

FS = Fração Solúvel; FI = Fração Insolúvel. Valores são médias ± desvio padrão. CFT é expresso em mg AGE.100g⁻¹. Letras sobreescritas diferentes na mesma linha representam diferenças estatísticas significativas para p<0,05.

A TABELA 3 apresenta a atividade antioxidante obtida nas FS e FI dos extratos de ácidos fenólicos do fruto de *P. angulata* nos dois estádios de maturação. Observou-se que durante a maturação do fruto de *P. angulata*, os valores de DPPH• foram similares tanto para FS quanto para FI, não havendo diferença significativa entre as frações. Quando se compara com o fruto de *P. peruviana*, a FI apresentou valor de DPPH• inferior (71,3 %) ao do fruto de *P. angulata*, diferindo estatisticamente. Rockenbach *et al.* (2008b) relatam valores maiores para atividade antioxidante na fração solúvel e insolúvel de frutos de *P. peruviana* (92,6; 106,2 µM TEAC.100g⁻¹) provenientes da região serrana do Rio Grande do Sul, utilizando extração sequencial diferente do presente estudo. Porém, Rockenbach *et al.* (2008b) observaram que também para a FI a atividade antioxidante foi superior ao apresentado na FS.

TABELA 3 - ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM DPPH• NAS FRAÇÕES SOLÚVEL E INSOLÚVEL NOS DOIS ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO EM FRUTOS DE *Physalis angulata* L. COMPARANDO COM FRUTOS DE *Physalis peruviana*

FRAÇÕES	<i>Physalis angulata</i>		<i>Physalis peruviana</i>
	VERDE	MADURO	MADURO
FS	17,6 ± 13,67 ^a	17,5 ± 11,80 ^a	16,8 ± 15,21 ^a
FI	47,1 ± 10,85 ^a	40,4 ± 7,15 ^a	28,8 ± 7,71 ^b

FS = Fração Solúvel; FI = Fração Insolúvel. Valores são médias ± desvio padrão. DPPH é expresso em µMTEAC.100g⁻¹ de polpa liofilizada. Letras sobreescritas diferentes na mesma linha representam diferenças estatísticas significativas para p<0,05.

3.3. DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (CFT) E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE (DPPH•) EM EXTRATO METANÓLICO DE *Physalis*.

A extração com metanol puro (item 2.3.2) resultou nos dados apresentados na TABELA 4 para o conteúdo dos compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante obtidos no fruto de *P. angulata* nos dois estádios de maturação e no fruto maduro de *P. peruviana*. Observou-se que o fruto de *P. angulata* apresentou um aumento de 9,8 % no conteúdo de CFT durante o seu amadurecimento, apresentando diferença significativa entre os dois estádios de maturação. Resultados similares foram encontrados por Severo *et al.* (2010) em frutos de *P. peruviana* em diferentes estádios de maturação, em que o teor de compostos fenólicos totais variou de 169,19 a 210,41 mgAGE.100g⁻¹. Comportamento semelhante também foi observado por Lima; Melo; Lima (2002) em amostras de pitanga roxa e vermelha, em que ambas as variedades apresentaram aumento no teor de compostos fenólicos totais durante a maturação dos frutos. Valdenegro *et al.* (2012), durante o amadurecimento dos frutos de *P. peruviana*, também reportou altos níveis de compostos fenólicos totais em extrato aquoso de frutos maduros cultivados no Chile (6,4 mg ácido caféico.100g⁻¹) com valores similares aos reportados para frutos produzidos na Colômbia (6,3 mg ácido caféico.100g⁻¹) (RAMADAN; MÖRSEL, 2007), representando apenas 2 % do reportado neste estudo.

As variações que ocorrem nos compostos fenólicos na pós-colheita, podem estar relacionadas a estresses bióticos a abióticos induzindo o metabolismo secundário do fruto, aumentando a produção desses compostos (TAIZ; ZEIGER, 2004). Segundo Ayala-Zavala *et al.* (2004) e Rapisarda *et al.* (2008), essas variações podem sofrer um aumento, diminuição ou comportamento irregular destes compostos na pós-colheita de diversos frutos.

TABELA 4 - COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (CFT) E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE (DPPH•) EM EXTRATO METANÓLICO DE FRUTOS DE *Physalis angulata* L. EM DOIS ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO E EM FRUTOS MADUROS DE *Physalis peruviana*.

Amostras	TPC	DPPH•
<i>Physalis angulata</i> - verde	284,17 ± 0,06 ^a	12,8 ± 0,04 ^a
<i>Physalis angulata</i> - maduro	314,84 ± 0,07 ^b	14,1 ± 0,04 ^b
<i>Physalis peruviana</i> - maduro	254,07 ± 0,05 ^a	11,3 ± 0,01 ^a

Valores são médias ± desvio padrão. TPC e DPPH• são expressos em mg AGE.100g⁻¹ e µM TEAC.g⁻¹ de polpa liofilizada. Letras sobreescritas diferentes na mesma coluna representam diferenças estatísticas significativas para p<0,05.

Comparando-se as variedades de *Physalis* maduras analisadas, o fruto de *P. angulata* apresentou teor TPC superior em 19,3 % comparado ao fruto de *P. peruviana*.

O fruto de *P. angulata* do presente estudo também apresentou valor superior de TPC aos encontrados em *P. peruviana* por Yildiz *et al.* (2014) em amostras provenientes da província de Bursa, na Turquia (136,64-154,55 mgAGE.100g⁻¹); Severo *et al.* (2010) (169,19 a 210,41 mgAGE.100g⁻¹) em amostras provenientes de Pelotas, Rio Grande do Sul; Rocha *et al.* (2011) em frutas nativas do cerrado (90 a 327 mg de AGE.100g⁻¹); Vasco; Ruales; kamal-Eldin (2008) (87 mgAGE.100g⁻¹) em amostras provenientes do Equador; Rockenbach *et al.* (2008b) (57,9 mg de GAE.100 g⁻¹) em amostras provenientes do Rio Grande do Sul; Wu *et al.* (2006) (19,64 a 90,80 mgAGE.100g⁻¹) em amostras provenientes do Taiwan e superior a frutas comercializadas no mercado brasileiro como: polpa de amora (118,90 mg.100g⁻¹); polpa de goiaba (83 mg.100g⁻¹); polpa de uva (117,1 mg.100g⁻¹); morango (132,1mg.100g⁻¹) (KUKOSKI *et al.*, 2006). Os compostos fenólicos tem participação no sabor e odor, na coloração e na vida de prateleira, estando a concentração de fenólicos correlacionada com a capacidade antioxidante, segundo Chitarra; Chitarra, 2005.

A atividade antioxidante (TABELA 4) expressa por DPPH• teve um aumento de 10,15 % durante a maturação do fruto de *P. angulata*. Comportamento similar foi encontrado por Valdenegro *et al.* (2012) em frutos de *P. peruviana* em que a atividade antioxidante aumentou durante a maturação do fruto.

Os valores de DPPH (μM TEAC.g⁻¹) encontrados neste trabalho são semelhantes ou superiores aos de outras frutas consideradas fontes de antioxidantes como: mamão (7,60 μM TEAC.g⁻¹), abacaxi (3,78 μM TEAC.g⁻¹), umbu (1,07 μM TEAC.g⁻¹), ciruela (6,25 μM TEAC.g⁻¹), jaca (0,63 μM TEAC.g⁻¹) (ALMEIDA *et al.*, 2011); uva (8,5 μM TEAC.g⁻¹), açaí (8,3 μM TEAC.g⁻¹), goiaba (7,4 μM TEAC.g⁻¹), graviola (4,5 μM TEAC.g⁻¹) e cupuaçu (1,11 μM TEAC.g⁻¹) (KUKOSKI *et al.*, 2005).

Rockenbach *et al.* (2008a) encontraram alta atividade antioxidante em *Physalis peruviana* (92,6 μM TEAC.g⁻¹), porém utilizando procedimento de extração diferente do empregado neste estudo. A atividade antioxidante pode depender de vários fatores como as condições e etapas de oxidação, formação e estabilidade dos radicais, assim como a possível localização dos antioxidantes e estabilidade em distintas fases do processamento nos alimentos (ROCKENBACH *et al.*, 2008b).

4. CONCLUSÃO

Através da análise por HPLC foi possível verificar que o ácido fenólico ferúlico é predominante no fruto maduro de *P. angulata* e o ácido *p*-hidroxibenzóico no fruto verde.

Para os dois estádios de maturação dos frutos de *Physalis* avaliados destacam-se derivados de ácidos cinâmico, em grande parte composta por ácidos ferúlico, sinápico, *p*-coumárico e cafeico, sendo encontrados principalmente na fração solúvel.

O fruto de *P. angulata* apresentou um aumento de 9,8 % no conteúdo de compostos fenólicos totais e 10,15 % no teor de DPPH durante o seu amadurecimento para o extrato metanólico. Comportamento similar foi observado nas frações solúvel e insolúvel dos extratos dos ácidos fenólicos.

O fruto de *P. angulata*, nos dois extratos analisados, apresentou valores de TPC e DPPH superiores aos encontrados em *P. peruviana*, fruto da família Solanaceae de maior consumo e comercialização no Brasil.

Considerando o conteúdo de ácidos fenólicos, o fruto de *P. angulata* pode ser considerado com características de um alimento potencialmente funcional.

5. REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, M. M. B.; SOUZA, P. H. M.; ARRIAGA, A. M. C.; PRADO, G. M.; MAGALHÃES, C. E. C; MAIA, G. A.; LEMOS, T. L. G. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. *Food Research International*, v. 44, p. 2155–2159, 2011.
- ALVARADO, P. A.; BERDUGO, C. A.; FISHER, G. Efecto de um tratamiento a 1,5 °C y dos humedades relativas sobre las características físico-químicas de fruto de uchuva *Physalis peruviana* L. durante el posterior transporte y almacenamiento. *Agronomía Colombiana*, Bogotá, v. 22 n. 2, p. 147-159, 2004.
- ANTON, A. A.; ROSS, K. A.; BETA, T.; FULCHER, R. G.; ARNTFIELD, S. D. Effect of dehulling treatments on some nutritional and physical properties of navy and pintobean (*Phaseolus vulgaris* L.). *LWT - Food Science and Technology*, v. 41, n. 5, p. 771–778, 2008.
- AYALA-ZAVALA, J. F.; WANG, S. Y.; WANG, C. Y.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A. Effect of storage temperatures on antioxidant capacity and aroma compounds in strawberryfruit. *LWT - Food Science and Technology*, Amsterdam, v. 37, p. 687–695, 2004.
- BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolics compounds in plants and agri-industrial byproducts: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, v. 99, p. 191-203, 2006.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-International Journal of Food Science & Technology*, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.

BOCCO, A.; CUVELIER, M. E.; RICHARD, H.; BERSET, C. Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 46, p. 2123–2129, 1998.

BOURNE, L. C.; RICE-EVANS, C. Bioavailability of ferulic acid. *Biochemical and biophysical research communication*, v. 253, p. 222–227, 1998.

CARRASCO, R. R., ZELADA, C. R. E. Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, v. 74, n. 2, p. 108-124, 2008.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. Pós-colheita de frutas e hortaliça: Fisiologia e Manuseio, 2. ed. Lavras: UFLA, 783p., 2005.

EINBOND, L.; REYNERTSONA, K. A.; LUO, X. D.; BASILEB, M. J.; KENNELLY, E. J. Anthocyanin antioxidant from edible fruits. *Food Chemistry*, v. 84, p. 23-28, 2004.

FARDET, A.; ROCK, E.; RÉMÉSY, C. Is the in vitro antioxidant potential of whole-grain cereals and cereal products well reflected in vivo. *Journal of Cereal Science*, v. 48, p. 258-276, 2008.

FISHER G. Crecimiento y desarrollo. In: Florez, V.J.; Fischer, G.; Sora, A. Producción, poscosecha y exportación de lauchuva (*Physalis peruviana* L.). Bogotá: Unibiblos, Universidad Nacional de Colombia, p. 9-26, 2000.

GAO, L.; WANG, S.; OOMAH, B. D.; MAZZA, G. Wheat quality: Antioxidant activity of wheat mill streams. In P. K. W. Ng, & C.W. Wrigley (Eds.), *Wheat Quality Elucidation: The Bushuk legacy* (pp. 219–233) (1st ed.). St. Paul, MN, USA: American Association of Cereal Chemists International, Inc, 2002.

GRUZ, J.; AYAZ, F. A.; TORUN, H.; STRNAD, M. Phenolic acid content and radical scavenging activity of extracts from medlar (*Mespilus germanica* L.) fruit at different stages of ripening. *Food Chemistry*, v. 124, p. 271–277, 2011.

GUIMARÃES, E. T.; LIMA, M. S.; SANTOS, L. A.; RIBEIRO, I. M.; TOMASSINI, T. B. C.; SANTOS, R. R.; SANTOS, W. L. C.; SOARES, M. B. Effects of seco-steroids purified from *Physalis angulata* L., Solanaceae, on the viability of *Leishmania* sp. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 20, n. 6, p. 945-949, 2010.

GUO, W.; BETA, T. Phenolic acid composition and antioxidant potential of insoluble and soluble dietary fibre extracts derived from select whole-grain cereals. *Food Research International*, v. 5, p. 518–525, 2013.

HALLIWELL, B. Antioxidants in human health and disease. *Annual Review of Nutrition* v. 16, p. 33–50, 1996.

HE, D.; SHAN, Y.; WU, Y.; LIU, G.; CHEN, B.; YAO, S. Simultaneous determination of flavanones, hydroxycinnamic acids and alkaloids in citrus fruits by HPLC-DAD-ESI/MS. *Food Chemistry*, v. 127, p. 880-885, 2011.

HOLMMAN, P. C. H.; ARTS, I. C. W. Flavonols, flavones and flavanols – nature, occurrence and dietary burden. *Journal Science Food Agricultural*, v. 80, p. 1081-1093, 2000.

INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ (IAPAR). Cartas climáticas do Estado do Paraná. 49p., 1994.

KING, A.; YOUNG, G. Characteristics and occurrence of phenolics phytochemicals. *Journal of the American Dietetic Association*, v. 99, n. 2, p. 213-218, 1999.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; TRONCOSO, A. M.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante em pulpa de frutos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 25, p. 726-732, 2005.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; MORALES, M. T.; FETT, R. Frutos tropicais silvestres e polpa de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. *Ciência Rural*, v. 36, n. 4, p. 1283-1287, 2006.

LIMA, C. R.; COSTA-SILVA, J. H.; LYRA, M. M. A.; ARAÚJO, A. V.; ARRUDA, V. M.; DIMECH, G. S.; EVÊNCIO, L. B.; FRAGA, M. C. C. A.; LAFAYETTE, S. S. L.; WANDERLEY, A. G. Atividade cicatrizante e estudo toxicológico pré-clínico do fitoterápico Sanativo®. *Acta Farmacêutica Bonaerense*, Buenos Aires, v. 25, n. 4, p. 544-549, 2006.

LIMA, V. L. A. G.; MELO, E. A.; LIMA, D. E. S. Fenólicos e carotenoides totais em pitanga. *Scientia Agricola*, v. 59, n. 3, p. 447-450, 2002.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. Plantas medicinais no Brasil nativas e exóticas. ed. 1. Nova odessa, SP: instituto plantarum de estudos da flora, 2002.

MAGALHÃES, H. I. F. Atividade antitumoral (*in vitro* e *in vivo*) das fisalinas isoladas de *physalis angulata* lin. Dissertação de mestrado em farmacologia, departamento de fisiologia e farmacologia, Universidade Federal do Paraná, 101p., 2005.

MATILLA, P.; KUMPULAINEN, J. Determination of free and total phenolic acids in plant-derived foods by HPLC with diode-array detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 50, p. 3660-3667, 2002.

MEYER, A. S.; DONOVAN, J. L.; PEARSON, D. A.; WATERHOUSE, A. L.; FRANKEL, E. N. Fruit Hydroxycinnamic acids inhibit human low-density lipoprotein oxidation in vitro. *Journal Agricultural Food Chemistry*, v. 46, p. 1783-1787, 1998.

MUNIZ, J.; KRETZSCHMAR, A. A.; RUFATO, L.; PELIZZA, T. R.; MARCHI, T.; DUARTE, A. E.; LIMA, A. P. F.; GARANHANI, F. Sistemas de condução para o cultivo de *physalis* no planalto catarinense. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 2013.

NIJVELDT, R. J.; NOOD, E. V.; HOORN, D. E. C.; BOELEN, P. G.; NORREN, K. V.; LEEUWEN, P. A. M. Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential applications. *American Journal Clinical Nutrition*, v. 74, n. 4, p. 418-425, 2001.

RAMADAN, M. F.; MÖRSEL, J. T. Impact of enzymatic treatment on chemical composition, physicochemical properties and radical scavenging activity of goldenberry (*Physalis peruviana*) juice. *Journal Science Food Agricultural*, v. 87, p. 452-460, 2007.

RAPISARDA, P.; LO BIANCO, M.; PANNUZZO, P.; TIMPANARO, N. Effect of cold storage on vitamin c, phenolics and antioxidant activity of five orange genotypes (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck). *Postharvest Biology and Technology*, Amsterdam, v.49, n. 3, p. 348-354, 2008.

REPO-DE-CARRASCO R., ENCINA-ZELADA C. R. Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas Peruanas. *Revista de la Sociedad Química de Perú*, v. 74, n. 2, p. 108-124, 2008.

ROCKENBACH, I. I.; RODRIGUES, E.; CATANEO, C.; GONZAGA, L. V.; LIMA, A.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Ácidos fenólicos e atividade antioxidante em fruto de *Physalis peruviana* L. *Alimento e Nutrição*, Araraquara, v. 19, n. 3, p. 271-276, 2008a.

ROCKENBACH, I. I.; SILVA, G. L.; RODRIGUES, E.; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades *Tannate Ancelota*. *Ciência e Tecnologia Alimentos*, Campinas, v. 28, p. 238-244, 2008b.

ROCHA, W. S.; LOPES, R. M.; SILVA, D. B.; VIEIRA, R. F.; SILVA, J. P.; AGOSTINI-COSTA, T. S. Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do cerrado. *Revista Brasileira Fruticultura*, Jaboticabal- SP, v. 33, n. 4, p. 1215-1221, 2011.

SEVERO, J.; LIMA, C. S. M.; COELHO, M. T.; RUFATTO, A. R.; ROMALDI, C. V.; SILVA, J. A. Atividade antioxidante e fitoquímicos em frutos de *Physalis* (*Physalis peruviana*, L.) durante o amadurecimento e o armazenamento. *Revista Brasileira Agrociência*, Pelotas, v. 16, n. 1-4, p. 77-82, 2010.

SILVA, K. N., AGRA, M. F. Estudo farmacobotânico comparativo entre *Nyctandrophysalodes* *Physalis angulata* (solanaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 15, n. 4, p. 344-351, 2005.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, v.16, n. 3, p. 144-158, 1965.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. Phenolics in food and nutraceuticals. Boca Raton, FL: CRC Press, p. 132-155, 2004.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. *Revista de Nutrição*, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.

TAIZ; ZEIGER. *Fisiologia vegetal*, 3 ed., Porto Alegre:Artmed, p. 312-333, 2004.

TOMÁS-BARBERAN, F.; ESPÍN, J. C. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *Journal Science Food Agricultural*, v. 81, p. 853-876, 2001.

TOMASSINI, T. C. B.; BARBI, N. S.; RIBEIRO, I. M.; XAVIER, D. C. D. Gênero *physalis* – uma revisão sobre vitaesteróides. *Química Nova*, v. 23, n. 1, p. 47-57, 2000.

WU, S. J.; TSAI, J. Y.; CHANG, D. L.; LIN, D. D.; WANG, S. S.; HUANG, L. T.; NG, L. T. Supercritical carbon dioxide extract exhibits enhanced antioxidant and anti-inflammatory activities of *Physalis peruviana*. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 108, p. 407–413, 2006.

VALDENEGRO, M. V.; FUENTES, L.; HERRERA, R.; MOYA-LEÓN, M. A. Changes in antioxidant capacity during development and ripening of goldenberry (*Physalis peruviana* L.) fruit and in response to 1-methylcyclopropene treatment. *Postharvest Biology and Technology*, v. 67, p. 110–117, 2012.

VASCO, C.; RUALES, J.; ELDIN-KAMAL, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chemistry*, n. 111, p. 816–823, 2008.

YILDIZ, G.; IZLI, N.; ÜNAL, H.; UYLASER, V. Physical and chemical characteristics of goldenberry fruit (*Physalis peruviana* L.). *Journal Food Science Technology*. DOI 10.1007/s13197-014-1280-3, 2014.

ZHANG, Y.; SUN, Y.; XI, W.; SHEN, Y.; QIAO, L.; ZHONG, L.; YE, X.; ZHOU, Z. Phenolic compositions and antioxidant capacities of Chinese wild mandarin (*Citrus reticulata Blanco*) fruits. *Food Chemistry*, v. 145, p. 674–680, 2014.

ZHAO, Z.; MOGHADASIAN, M. H. Chemistry, natural sources, dietary intake and pharmacokinetic properties of ferulic acid: a review. *Food chemistry*, v. 109, p. 691–702, 2008.

CAPÍTULO 3

CARACTERIZAÇÃO DOS SUBPRODUTOS DE *Physalis angulata* L.: CÁLICES, FARINHA E ÓLEO DAS SEMENTES

CARACTERIZAÇÃO DOS SUBPRODUTOS DE *Physalis angulata* L.: CÁLICES, FARINHA E ÓLEO DAS SEMENTES

Ana Mery de Oliveira-Camlofski^{a,*}, Eriel Forville^a, Rosemary Hoffmann Ribani^a,
Trust Beta^{b,c}

^aPrograma de Engenharia de Alimentos – PPGEAL, Universidade Federal do Paraná, 81531-980 Curitiba, Pr, Brasil

^bDepartamento de Ciência de Alimentos, Universidade de Manitoba, Winnipeg, Canadá, R3T2N2.

^cRichardson Centre for Funcional Foods and Nutraceuticals, Smartpark, University of Manitoba, Winnipeg, Canada, R3T 6C5

RESUMO

O fruto de *Physalis angulata* L., é climatérico revestido por um cálice que o protege de condições ambientais adversas. Embora estudos relatem que a manutenção do cálice é favorável, é considerado um subproduto do fruto, assim como as sementes. Neste estudo foram caracterizados os subprodutos dos frutos de *Physalis angulata*. A composição centesimal do cálice indicou elevado teor de lipídeos (12,35 g.100g⁻¹), proteínas (7,84 g.100g⁻¹) e carboidratos (59,56 g.100g⁻¹). O flavonol majoritário, identificado por HPLC/MS, foi a rutina (1,49 mg.g⁻¹). Os resultados para CFT (1326,26 mgFA.100g⁻¹) e DPPH (27,90 µMTEAC.g⁻¹) nos cálices, foram aproximadamente 24 % e 50,54 % superiores aos relatados para o extrato metanólico do fruto de *P. angulata*. A composição centesimal da farinha das sementes dos frutos de *P. angulata* sugere que pode ser utilizada como fonte de lipídeo. Dos minerais analisados, os macro-nutrientes (K, P, Mg e Ca) apresentaram elevados teores, seguidos dos micro-nutrientes (Fe, Zn e Cu), sendo o potássio o mineral majoritário (671,19 mg.100g⁻¹). Apresentou alto teor de TPC (207,90 mgAGE.100g⁻¹) quando comparado com outras farinhas de sementes de frutos. A análise do óleo extraído das sementes dos frutos de *P. angulata*, indicou que o ácido graxo majoritário foi o ácido linoleico (66,40 g.100g⁻¹) seguido do ácido oleico (18,68 g.100g⁻¹) e palmítico (11,07 g.100g⁻¹). A soma dos ácidos graxos insaturados (ácidos linoleico, oleico e palmitoleico) representa aproximadamente 85 % do óleo extraído da farinha, caracterizando-o como ácido graxo predominantemente insaturado. O teor de fosfolipídeo (1,12 mg.g⁻¹) foi calculado através do conteúdo de fósforo da amostra (0,045 mg.g⁻¹) por meio do fator de conversão, sugerindo que o óleo extraído da farinha pode ser uma alternativa para extração de fosfolipídeos. Os dados obtidos neste estudo indicam que os subprodutos dos frutos de *P. angulata* podem ser utilizados como matéria-prima para elaboração de chás (cálice), fonte de obtenção de ácidos graxos insaturados e minerais (farinha das sementes). Sugerem-se, ensaios biológicos destes subprodutos, pois nunca foram usados como alimentos.

Palavras-chave: *Physalis angulata* L., cálice, sementes, óleo.

CHARACTERIZATION OF BY-PRODUCTS OF *Physalis angulata* L.: CALYX, FLOUR AND OIL SEEDS

Ana Mery de Oliveira-Camlofski^a, Eriel Forville^a, Rosemary Hoffmann Ribani^a,
Trust Beta^{b,c}

^a Graduate Program in Food Engineer, Chemical Engineering Department, Paraná Federal University, 81531-980 Curitiba, PR, Brazil

^b Department of Food Science, University of Manitoba, Winnipeg, Manitoba, Canada

^c Richardson Centre for Funcional Foods and Nutraceuticals, Smartpark, University of Manitoba, Winnipeg, Canada, R3T 6C5

ABSTRACT

The fruit of *Physalis angulata* L., is a climacteric fruit covered with a calyx that protects the fruit from adverse environmental conditions. Although studies report that maintenance of the calyx is favorable, is considered a byproduct of the fruit as well as seeds. In this study the byproducts of the fruits of *P. angulata* were characterized. The proximate composition of the calyx indicated high levels of lipids (12.35 g.100g⁻¹), protein (7.84 g.100g⁻¹) and carbohydrates (59.56 g.100g⁻¹). The majority flavonol identified by HPLC/MS was rutin (1.49 mg.g⁻¹). The results for TPC (1326.26 mgFA.100g⁻¹) and DPPH (27.90 µMTEAC.g⁻¹) in calyx, were approximately 24 % and 50.54 % higher than those reported for the methanol extract of the fruit of *P. angulata*. The chemical composition of the flour of the seeds of the fruits of *P. angulata* suggests that the flour can be used as a source for obtaining the lipid fraction. Minerals analyzed, the macro-nutrients (K, P, Mg and Ca) showed elevated levels, followed by micro-nutrients (Fe, Zn and Cu), the majority being the mineral potassium (671.19 mg.100g⁻¹). Showed a high level of TPC (207.90 mgAGE.100g⁻¹) when compared with other fruit seed flour. The analysis of oil extracted from the seeds of fruits of *P. angulata*, indicated that the major fatty acid is linoleic acid (66.40 g.100g⁻¹) followed by oleic acid (18.68 g.100g⁻¹) and palmitic (11.07 g.100g⁻¹). The sum of unsaturated fatty acids (linoleic acid, oleic and palmitoleic) represents approximately 85 % of oil extracted from flour, characterizing it as predominantly unsaturated fatty acid. The content of phospholipid (1.12 mg.g⁻¹) was calculated using the phosphorus content of the sample (0.045 mg.g⁻¹) by means of the conversion factor, suggesting that the extracted oil meal may be an alternative to extraction of phospholipids. The data obtained in this study indicate that the byproducts of fruit *P.angulata* can be used as raw material for preparation of tea (calyx), a source of obtaining unsaturated and minerals (seed flour) fatty acids. Biological tests are suggested, because these sub products have never been used as food.

Keywords: *Physalis angulata* L., calyx, seeds, oil.

1. INTRODUÇÃO

Physalis angulata L. (*P. angulata*) é uma espécie pertencente à família Solanaceae e inclui aproximadamente 120 espécies, distribuídas principalmente nas zonas tropicais e temperadas das Américas (CHEN *et al.*, 2014). Popularmente conhecido como camapu, é um fruto climatérico revestido por um cálice com aspecto foliar (FIGURA 1), que serve para protegê-lo de condições ambientais adversas (ALVARADO *et al.*, 2004; MAGALHÃES, 2005), indicativo do ponto de colheita do fruto de acordo com as Normas da ICONTEC - Normas Técnicas Colombianas NTC 4580 (1999) e na redução da perda de coloração do fruto (GALVIS *et al.*, 2005). Serve como fonte de carboidratos durante os primeiros 20 dias de crescimento do fruto (FISCHER; LÜDDERS, 1997) e prolonga a vida pós-colheita em 2/3 a mais do que os frutos sem cálice (HERRERA, 2000). Existem estudos relacionados aos cálices de outras espécies de *Physalis* nos quais o principal interesse reside em suas propriedades medicinais. Franco *et al.* (2007) avaliaram a atividade antiinflamatória de cálices de *Physalis peruviana*. Chen *et al.* (2014) avaliaram os constituintes químicos dos cálices de *Physalis alkekengi* var. *franchetii*, identificando a presença de terpenoides, alcaloides e fenilpropanoides podendo ser considerado marcador quimiotaxonômico para subdivisão do gênero *Physalis*.



FIGURA 1: CÁLICES DE FRUTOS DE *Physalis angulata* L.
FONTE: AUTOR

Alvarado; Berdugo; Fisher (2004) avaliaram as características físico-químicas e a respiração dos frutos de *Physalis peruviana*, com e sem cálice e observaram que os frutos com cálice mantiveram a qualidade por um período de tempo maior do que os frutos sem cálice, pois a intensidade respiratória torna-se menor. Bolzan; Cuquel; Lavoranti (2011)

observaram a mesma tendência ao avaliar o armazenamento refrigerado de *Physalis angulata* L. e *Physalis peruviana* L. com e sem cálice, onde os frutos com cálice podem ser armazenados por 90 dias e os frutos sem cálice por 58 dias a 2 ± 1 °C e UR 90 ± 5 % para ambos os frutos. Embora estudos demonstrem que a manutenção do cálice é favorável, muitas vezes é descartado antes da armazenagem. Conforme deduzido dos dados de Bolzan; Cuquel; Lavoranti (2011), o cálice representa em média 20,44 % de subproduto (resíduo) dos frutos.

Também são subprodutos comuns do processamento, as sementes de frutas, que atualmente pela caracterização e avaliação das suas propriedades tornam-se importantes, tendo em vista uma possível valorização das farinhas de semente de frutas como fonte de compostos benéficos à saúde, bem como para aumentar a rentabilidade das indústrias de processamento e dos fabricantes de óleo de sementes de frutas (FAZIO *et al.*, 2013; PARRY *et al.*, 2005).

O fruto *P. angulata* se propaga facilmente por sementes, motivo pelo qual a espécie é considerada como infestante de outras culturas (SOUZA *et al.*, 2010) (FIGURA 2). Segundo Rufato *et al.* (2008), o fruto contém de 100 a 300 sementes que podem ser separadas facilmente da polpa. Souza *et al.* (2010) relataram que as sementes de *P. angulata* pesam em média 0,025 g e contêm 7 % de teor de água, apresentando, em média, 1,55 mm de comprimento, 1,26 mm de largura e 0,43 mm de espessura. Pesquisas confirmam a utilidade de algumas sementes na dieta humana e dos seus benefícios nutricionais como o conteúdo de carboidratos, proteínas, atividade antioxidante e ácidos graxos (LIMA *et al.*, 2014).

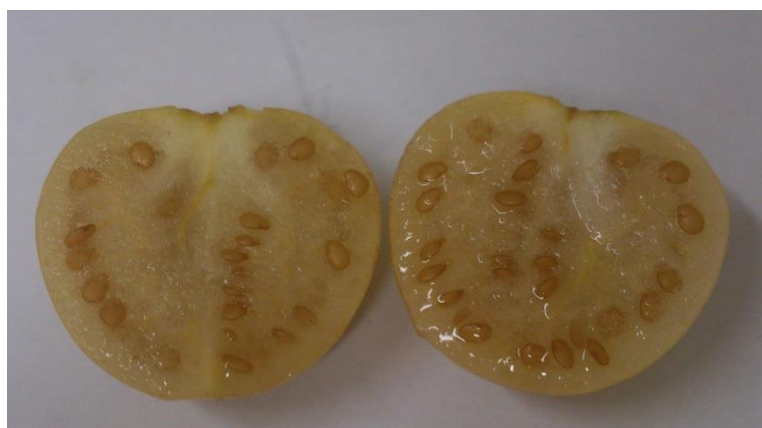


FIGURA 2 – FRUTO DE *Physalis angulata* L.
FONTE: O AUTOR

A utilização de óleos de sementes comestíveis atualmente tem despertado grande interesse, devido aos benefícios relatados para a saúde. Muitos fitoquímicos podem ser

detectados em sementes de óleos comestíveis, como carotenoides, tocoferóis e em especial ácidos graxos insaturados como α -linoleico. Este ácido graxo não pode ser sintetizado em nosso organismo, devendo ser ingerido através da dieta (PARRY *et al.*, 2005).

Após ampla revisão bibliográfica, nenhum estudo foi encontrado na literatura em relação ao cálice, a farinha e o óleo de sementes de *P. angulata*. Assim, os objetivos deste trabalho foram determinar a composição centesimal, identificar o flavonol majoritário por HPLC/MS, avaliar o teor de compostos fenólicos totais (CFT) e estimar a atividade antioxidante nos cálices dos frutos de *P. angulata*. Na farinha das sementes do fruto, os objetivos foram determinar a composição centesimal, o teor de minerais e CFT. No óleo extraído, identificar a composição de ácidos graxos e teor de fosfolipídeos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. FRUTOS DE *Physalis angulata* L.

Os frutos de *P. angulata* foram plantados e coletados na estação experimental da Universidade Federal do Paraná, localizada em Quatro Barras. A exsiccata planta foi depositada no Museu Botânico de Curitiba (Paraná-Brasil) sob o número 384015.

Os frutos foram colhidos manualmente 80 dias após o plantio (nos meses de março e abril) e classificados visualmente de acordo com a intensidade da coloração do epicarpo dos frutos maduros, quando o epicarpo estava totalmente amarelo-arroxado ou amarelo.

2.1.1. Cálice

Os cálices foram separados manualmente dos frutos maduros e desidratados em estufa de circulação de ar (Nova Ética) a 40 °C por 24 h. Em seguida, foram triturados em liquidificador (Oster) e acondicionados em embalagens de polietileno sob vácuo (INAVEN MASCHINEN AG, modelo CH-9100 HERISAN – VC 999[®]).

2.1.2. Farinha das sementes

As sementes dos frutos maduros foram separadas da polpa através de peneiras (24 mesh). Em seguida, foram desidratadas em estufa a 105 °C/ 24 h e trituradas em moinho de bancada (Marconi - modelo MA 630/1), resultando na farinha, utilizada na realização das análises.

2.1.3. Óleo da semente

O óleo foi obtido por extração através do método de Soxhlet (AOAC, 2000).

2.2. PADRÕES E SOLVENTES

Os padrões para análise em ICP-OES (Espectrometria de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente) dos minerais foram adquiridos da marca *Accu Standard*. Padrão analítico dos ácidos graxos (Palmítico; Palmitoleico; Esteárico, Oleico, Linoleico e Araquídico) foram adquiridos da Supelco®. Agente derivatizante tri-fluoreto de boro em metanol a 14 % (BF₃) adquirido da empresa Sigma-Aldrich. Metanol e n-hexano 95 % da J.T.Baker®. Reagente fenólico de Folin-Ciocalteu, 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), ácido acético, ácido gálico e metanol de qualidade para HPLC. Os padrões de ácido gálico e ácido ferúlico foram adquiridos da Sigma-Aldrich Chemical Co.

2.3. ANÁLISES

2.3.1. CÁLICE

2.3.1.1. Composição Centesimal

O teor de umidade foi determinado por gravimetria a 105 °C/24 h em estufa até massa constante (BRASIL, 2005). O teor de cinzas foi determinado pelo método descrito por IAL (1985), sendo os resultados expressos em percentagem.

O teor de lipídeos foi determinado pelo método de Soxhlet e o teor de proteína foi determinado pelo método de Kjeldahl (AOAC, 2000). A porcentagem dos carboidratos totais foi determinada fazendo-se a somatória dos teores de umidade, cinzas, lipídeos e proteínas e subtraindo-se de 100 (BRASIL, 2001). A fibra bruta foi determinada utilizando o método gravimétrico (AOAC, 2000).

2.3.1.2. Extrato metanólico dos cálices de *P. angulata*.

A extração foi realizada de acordo com Repo-de-Carrasco; Zelada (2008). Resumidamente, 12,5 mL de metanol puro foram adicionados a 1,0 g de amostra, seguida de homogeneização durante 15 min com agitador magnético. Em seguida os extratos foram armazenados no escuro por 24 h a 4°C e centrifugados a 5000 rpm por 20 min. O sobrenadante foi removido e utilizado para as análises de determinação de flavonóis, compostos fenólicos totais (TPC) e atividade antioxidante pelo método DPPH*.

2.3.1.3. Análise dos flavonóis por HPLC/MS

A separação cromatográfica e a análise espectrométrica das massas (HPLC/MS) foram realizadas em HPLC Waters 2695 (Waters Corp, Milford, MA, EUA) equipado com um detector *photo diode array* (PDA) Waters 996 (Waters Corp) e um auto-amostrador Waters 717 plus (Waters Corp) acoplado a espectrômetro de massa quadrupolo (Q-TOF-MS) (Micromass, Waters Corp.). A coluna analítica utilizada foi uma Phenomenex - Luna C-18 (150 mm x 3 mm, 3 μ m). Durante as análises de HPLC/MS, 10 μ L de amostra foram injetados pelo amostrador automático. O procedimento de HPLC utilizado neste estudo foi uma modificação do método descrito por Licodiedoff; Koslowski; Ribani (2013). As amostras foram eluídas através da coluna com um gradiente de fase móvel consistindo de A (0,1 % (v / v) de ácido acético em água) e B (0,1 % (v / v) de ácido acético em metanol) com uma taxa de fluxo de 0,2 mL por min, antes da injeção no Q-TOF-MS. Um gradiente de eluição de 70 minutos foi programado como segue: 0-11 min 15 % B; 12-37 min 40 % B; 38-43 min 60 % B; 44-50 min 15 % B; 51-70 min 15 % B. As temperaturas da coluna e amostras foram ambas mantidas em 20 °C. O procedimento de Q-TOF-MS usada neste estudo foi uma modificação do método descrito por Celli *et al.* (2011), em modo negativo e calibrado, utilizando iodeto de sódio (2 μ g. μ L⁻¹, 50:50 de 2-propanol: água), de acordo com as instruções do fabricante. Os espectros de massa foram registrados usando uma voltagem capilar de 1,2 kV e uma voltagem cone de 45 V. Os fluxos de gases de dessolvatação (N₂) e de colisão (He) foram 900 e 50L.h⁻¹, respectivamente. A temperatura do gás de dessolvatação e da fonte de íon foi programada para 120 e 250 °C, respectivamente.

2.3.1.4. Determinação de compostos fenólicos totais (CFT)

Os compostos fenólicos totais foram determinados pelo método de Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ROSSI, 1965), adaptado por Gao *et al.* (2002). Resumidamente, 200 μ L do extrato (item 2.3.1.2) adequadamente diluído foi adicionado 1,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu (1:10) e 1,5 mL de uma solução de carbonato de sódio (60 g.L⁻¹) e homogeneizado em vortex. Após 120 min de reação no escuro a 25 \pm 3 °C, a absorbância foi medida a 725 nm. O ácido ferúlico (FA) foi utilizado como padrão e os resultados foram expressos em mgFA.100g⁻¹ cálice.

2.3.1.5. Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH•

A análise da atividade antioxidante baseou-se no método descrito por Brand-Williams; Cuvelier; Berset (1995), com modificações por Anton *et al.* (2008). Resumidamente, 3,9 mL de solução metanólica de radical DPPH• 60 µM foi adicionado a 100 µL de extrato (item 2.3.1.2). Depois de 30 min de incubação no escuro a 25 ± 3 °C, a absorbância foi medida em 515 nm. Os resultados foram expressos como equivalentes µmol de Trolox equivalente (TEAC) por g de cálice.

2.3.2. FARINHA DAS SEMENTES

2.3.2.1. Composição centesimal

Conforme descrito no item 2.3.1.1

2.3.2.2. Determinação dos minerais

Aproximadamente 1,0 g da farinha das sementes foram digeridas em ácido nítrico (HNO₃), sob-refluxo durante 30 minutos. Após a digestão, a solução foi resfriada, filtrada e transferida para balão volumétrico de 100 mL. O extrato obtido foi utilizado para a análise dos minerais (AOAC, 2011). A quantificação dos minerais: Alumínio (Al), Arsênio (As), Bário (Ba), Cromo (Cr), Cálcio (Ca), Cobre (Cu), Ferro (Fe), Magnésio (Mg), Manganês (Mn), Fósforo (P), Estanho (Es), Chumbo (Pb) e Zinco (Zn), foi realizada por espectrometria de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente (ICP-OES) em espectrômetro Varian 700- ES com padronização externa por meio da elaboração de curvas de calibração para cada um dos elementos analisados. As curvas de calibração foram preparadas nas concentrações de 0,1 – 2,0 mg.L⁻¹ para os elementos Al, As, Ba, Cr, Cd, Fe, Mg, Mn, P, Pb, Zn e 1 – 20 mg.L⁻¹ para o elemento Ca. Os valores de $R^2 \geq 0,99$ e erro máximo ≤ 15 % foram adotados como controle analítico do método.

2.3.2.3. Determinação de fenólicos totais (CFT)

Como descrito no item 2.3.1.4

2.3.3. ÓLEO DA FARINHA DAS SEMENTES

2.3.3.1. Composição dos ácidos graxos

Uma alíquota da fração lipídica (± 25 mg) obtida de acordo com AOAC (2011) foi esterificada conforme AOCS (1997). Os ensaios foram realizados em cromatógrafo em fase gasosa Varian® CP3900 (FID), equipado com coluna capilar CP-SIL88 (100m x 0,25mm d.i. 0,2 μ m). O forno de coluna foi mantido a 140 °C durante 5 minutos, com elevação da temperatura a 210 °C com taxa de aquecimento de 7 °C.min⁻¹, permanecendo nesta temperatura por 25 min. seguido da elevação a 235 a 1 °C.min⁻¹. O injetor e detector mantidos a 220 °C e 260 °C, respectivamente. O gás de arraste utilizado foi N₂ sob fluxo constante de 0,6 mL.min⁻¹. Volume de injeção de 1 μ L, com razão de partição da amostra (split) de 1:100.

2.3.3.2. Determinação de fosfolipídeos

O teor aproximado de fosfolipídeos foi determinado a partir do conteúdo de fósforo (AOAC, 2005) da amostra de óleo, utilizando o fator de conversão teórico de 25 sobre o teor de fósforo obtido. Este fator de conversão foi estabelecido inicialmente para óleo bruto de cereais (girassol e soja), segundo Carelli; Ceci; Crapiste (2002) e Chapman (1980).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. CÁLICE

3.1.1. Composição centesimal

A composição centesimal do cálice desidratado está apresentada na TABELA 1. Considerando que o possível uso dos cálices seria para o preparo de infusão, a composição centesimal apenas indica que o cálice tem elevado teor de lipídeos (12,35 g.100g⁻¹), proteínas (7,84 g.100g⁻¹) e carboidratos (59,56 g.100g⁻¹) sugerindo um potencial de fornecer a parcela solúvel destes componentes em infusões.

TABELA 1 – COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DOS CÁLCICES DE FRUTOS DE *P. angulata*

Análises (g.100g ⁻¹)	Médias ± desvio padrão
Umidade	11,94 ± 0,06
Cinzas	8,31 ± 0,40
Proteína	7,84 ± 0,50
Lipídeos	12,35 ± 0,37
Fibra Bruta	18,40 ± 0,67
Carboidratos Totais*	59,56

*Valor calculado por diferença. Valores são médias ± desvio padrão de três repetições.

O teor de umidade, cinzas, lipídeos foram similares aos encontrados por Silva *et al.*, (2004) em folhas desidratadas de yacon (11,62; 8,25; 10,85 g.100g⁻¹ respectivamente), diferindo do teor de proteína em que os autores encontraram valor maior (18,52 g.100g⁻¹) do que o presente estudo (7,84 g.100g⁻¹).

O valor de carboidratos totais do cálice (59,56 g.100g⁻¹) é maior quando comparado com o fruto *Physalis* (12,33g.100g⁻¹). Esses dados concordam com Fisher; Lüdders (1997) em que os autores estudaram as mudanças dos carboidratos (glicose, frutose, sacarose e amido) nos frutos, cálices e folhas de *Physalis peruviana* e sugerem que o cálice é importante para o fornecimento de carboidratos principalmente na etapa inicial do crescimento do fruto.

3.1.2. Identificação e quantificação do flavonol majoritário em cálices de *P. angulata* por HPLC/MS

Conforme a FIGURA 3 e os dados da TABELA 2, pode-se observar que a rutina foi o flavonol majoritário encontrado nos cálices de frutos de *P. angulata*, sendo confirmado pelo espectro HPLC/MS (FIGURA 4).

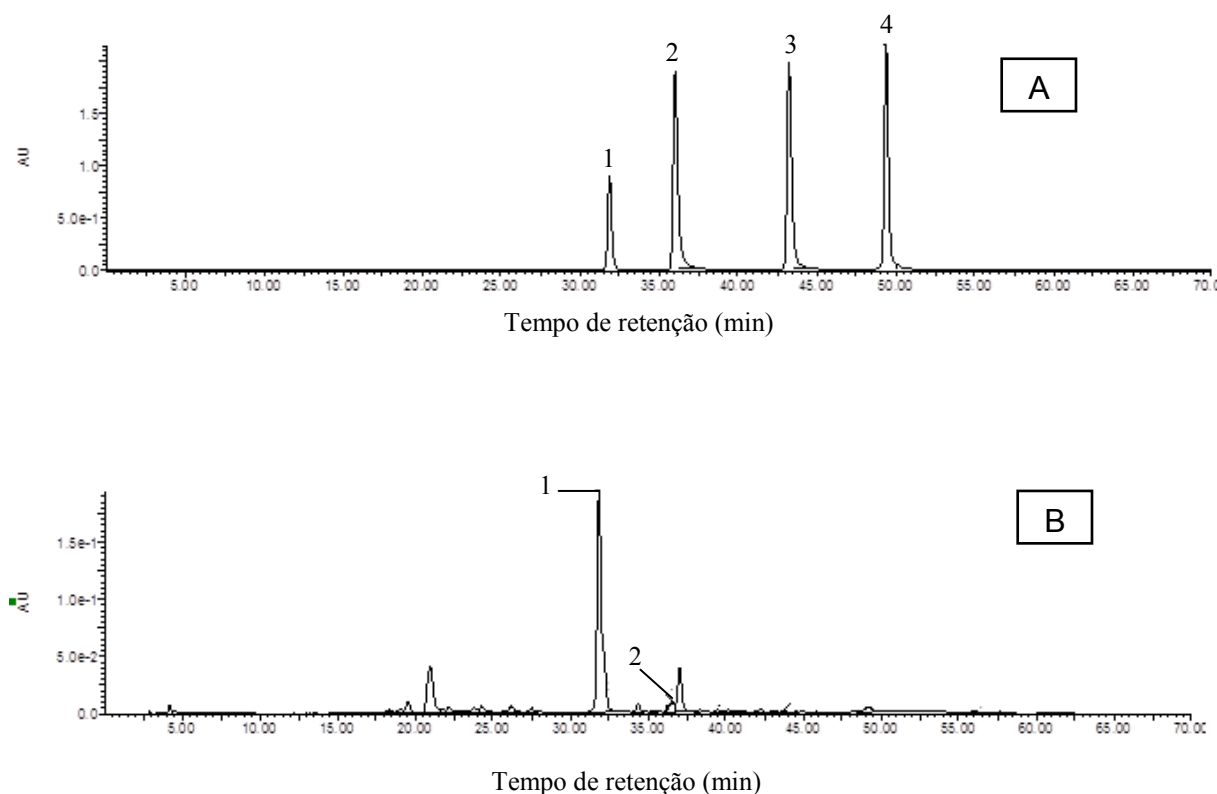


FIGURA 3– PERFIL CROMATOGRÁFICO OBTIDO POR HPLC DA MISTURA DE PADRÕES DE FLAVONÓIS (A); EXTRATO METANÓLICO DAS AMOSTRAS DOS CÁLCES DE FRUTOS DE *Physalis angulata* L. (B).

NOTA: OS FLAVONÓIS SÃO: PICO 1: RUTINA; 2: MIRICETINA; 3: QUERCITINA; 4: KAEMPFEROL

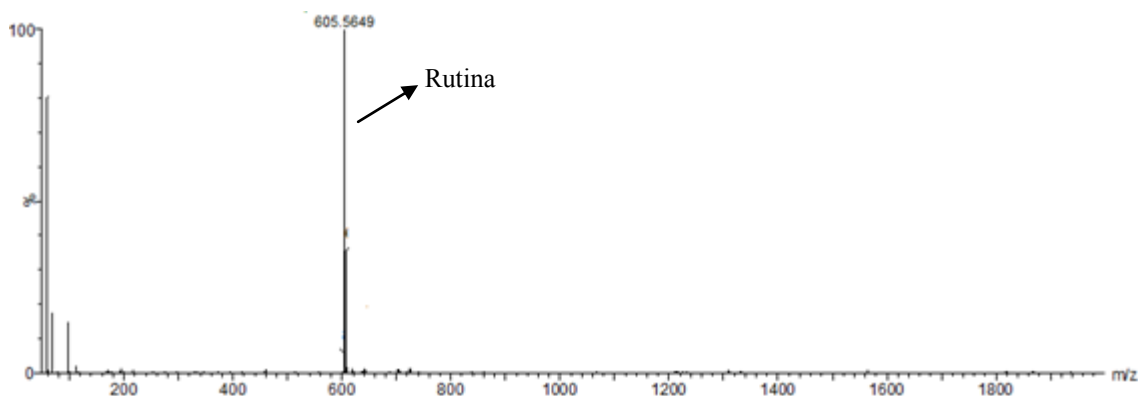


FIGURA 4 – ESPECTRO HPLC/MS DO CÁLICE DE *P. angulata*

Estudos *in vivo* e *in vitro* têm mostrado que a rutina é um flavonol com potencial antioxidante e antiinflamatório (KAZŁOWSKA *et al.*, 2010; MOON; KIM, 2012; SHENBAGAM; NALINI, 2011). Segundo Petruzzellis *et al.* (2002) e Erlund (2004), a rutina e seus derivados são eficazes no tratamento de doenças vasculares, sendo utilizada como componente principal de muitos medicamentos.

TABELA 2 - TEORES DE FLAVONÓIS EM CÁLICES DE FRUTOS DE *P. angulata*

Flavonóide	Médias (mg.g ⁻¹) ± Desvio padrão
Rutina	1,49 ± 0,001
Miricetina	0,15 ± 0,01
Quercetina	nd
Kaempferol	nd

Valores são médias ± desvio padrão de três repetições.

Quando comparados os teores dos flavonóis nos cálices de *P. angulata* (TABELA 2) com ervas para preparo de chás comumente consumidos, os níveis de rutina encontrados no cálice de *P. angulata* (1,49 mg.g⁻¹) são inferiores aos encontrados por Dutra; Hoffmann-Ribani (2009) em folhas de erva-mate (3,20 a 12,70 mg.g⁻¹) mais quais esse flavonol é majoritário (FILIP *et al.*, 2001; RIBANI, 2006). Altiok *et al.* (2008) (0,18 mg.g⁻¹); Benavente-García (2000) (0,05 mg.g⁻¹) e Lee *et al.* (2009) (1,38 mg.g⁻¹), avaliando extratos de folhas de oliveira e Andrade *et al.* (2014) (0,04 mg.g⁻¹) analisando extratos metanólicos de folhas de yacon relataram valores inferiores de rutina em relação ao presente estudo.

Nour; Trandafir; Cosmulescu (2014), avaliando extratos hidroalcoólicos de folhas de groselheira-preta (*Ribes nigrum* L.) em seis cultivares relataram valores médios inferiores para rutina (266,1 µg.g⁻¹) e superiores para miricetina (831,03 µg.g⁻¹).

Também se deve considerar que a extração metanólica empregada nesse estudo, não é capaz de extrair as possíveis formas de compostos fenólicos esterificados da matriz.

3.1.3. Determinação dos compostos fenólicos totais (CFT) e atividade antioxidante (DPPH•) em cálices de frutos de *P. angulata*.

Os resultados para CFT (1326,26 mgFA.100g⁻¹) e DPPH• (27,90 µMTEAC.g⁻¹) nos cálices, foram aproximadamente 24 e 50,54 % superiores aos relatados para o extrato metanólico do fruto de *P. angulata* (314,84 mgAGE.100g⁻¹ e 14,1µM TEAC.g⁻¹) respectivamente TPC e DPPH•. Valores de CFT menores que o presente estudo foram relatados por Frizon *et al.* (2014) em folhas de erva mate (23,07 a 168,50 mg 5CQAEq.g⁻¹).

A ação antioxidante do cálice verificada por DPPH• e CFT se deve principalmente à capacidade da amostra em reduzir um oxidante, que não precisa ser estritamente um radical livre. O ensaio da atividade antioxidante por redução do DPPH• ou CFT envolve principalmente o mecanismo de Transferência de Elétron, SET (*Single Electron Transfer*) e marginalmente o de HAT (*Hydrogen Atom Transfer*), que investiga a capacidade dos

antioxidantes em bloquear a ação dos Radicais Peroxila (ROO^\bullet), através da doação de hidrogênio (HUANG; PRIOR, 2005; PRIOR; WU; SCHAICH, 2005).

A comparação com os dados da literatura é difícil, uma vez que nenhum estudo foi previamente realizado com o cálice de *P. angulata*.

3.2. FARINHA DAS SEMENTES *Physalis angulata*

3.2.1. Composição centesimal da farinha

A TABELA 3 apresenta a composição centesimal da farinha das sementes de frutos de *Physalis angulata* L. (FSP), ilustrada na FIGURA 5.



FIGURA 5 – FARINHA DAS SEMENTES DE *P. angulata* L.
FONTE: O AUTOR

TABELA 3 – COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DA FARINHA DAS SEMENTES DE FRUTOS DE *Physalis angulata* L.

Análises	Média (g.100g^{-1}) \pm desvio padrão
Umidade	$7,95 \pm 0,03$
Cinzas	$2,64 \pm 0,14$
Proteínas	$14,37 \pm 0,05$
Lipídeos	$28,74 \pm 1,61$
*Carboidratos totais	46,3

* Valor calculado por diferença

O teor de umidade e cinzas (TABELA 3) é relativamente próximo aos teores encontrados por Lima *et al.* (2014) em seis farinhas de sementes de frutas variando de 6,2 a $7,8 \text{ g.100g}^{-1}$ e Santos *et al.* (2014), em farinha de semente de mamão *Havai* ($5,27 \text{ g.100g}^{-1}$) e *Calimosa* ($5,5 \text{ g.100g}^{-1}$). O teor de proteína ($14,37 \text{ g.100g}^{-1}$) foi superior quando comparado

com a farinha de sementes de moranga (*Cucurbita maxima* Duch) (6,08 g.100g⁻¹) e mamão (*Carica papaya*) (7,33 g.100g⁻¹) (STORCK *et al.*, 2013). Valores de lipídeos relatados por Santos *et al.* (2014) para farinha de sementes de duas variedades de mamão *Havai* (29,72 g.100g⁻¹) e *Calimosa* (27,99g.100g⁻¹) e Florina *et al.* (2013) analisando sementes de uva cultivadas na Romenia (12,15 g.100g⁻¹), indicam que a FSP pode ser valorizada pela obtenção da fração lipídica. Considerando que as frações proteica, lipídica e os carboidratos fornecem respectivamente 4 kcal.g⁻¹, 9 kcal.g⁻¹ e 4 kcal.g⁻¹ (CECCHI, 2003) obtém-se um potencial de 501,22 kcal por ingestão de 100 g da farinha.

3.2.2. Determinação dos minerais

A TABELA 4 apresenta os dados obtidos sobre a composição mineral da FSP.

TABELA 4 – COMPOSIÇÃO MINERAL DA FARINHA DAS SEMENTES DE FRUTOS DE *Physalis angulata* L.

Minerais	Ingestão diária recomendada *	Médias (mg.100g ⁻¹) ± desvio padrão
Ca	1000 mg/d	18,06 ± 4,08
Cu	900 µg/d	0,76 ± 0,02
Fe	14 mg/d	4,18 ± 0,31
K	-	671,19 ± 4,70
Mg	260 mg/d	205,30 ± 3,01
Mn	2,3 mg/d	1,47 ± 0,11
P	700 mg/d	433,05 ± 9,13
Zn	7 mg/d	2,84 ± 0,21
Ar	-	< 0,10
Cd	-	< 0,10
Cr	-	< 0,10
Pb	-	< 0,10

* ANVISA, 2003.

Dentre os minerais analisados na FSP os macro-nutrientes (K, P, Mg e Ca) apresentaram elevados teores, seguidos dos micro-nutrientes (Fe, Zn e Cu). Comonomalmente ocorre para alimentos (CECCHI, 2003), o potássio foi o mineral majoritário.

Comparando com outras farinhas de sementes, os dados apresentaram valores superiores aos descrito por Florina *et al.* (2013) em sementes de uva para Cu (1,62 mg.100g⁻¹), Mn (1,38 mg.100g⁻¹), Zn (1,01 mg.100g⁻¹) e Fe (10,4 mg.100g⁻¹). Clerici *et al.* (2011) estudando as farinhas de semente da fruta-de-lobo (*Solanum lycocarpum* St. Hil), fruto da mesma família do *Physalis*, relataram teores inferiores as da FSP para K (564 mg.100g⁻¹), P

(96,3 mg.100g⁻¹) e Mg (99 mg.100g⁻¹) e superiores aos teores de Ca (35,5 mg.100g⁻¹) e Zn (0,97 mg.100g⁻¹).

Não há dados publicados sobre a composição mineral da farinha de sementes de *P. angulata* na literatura.

3.2.3. CFT

O teor de CFT (207,90 mgAGE.100g⁻¹) da FSP foi superior ao relatado por Fazio *et al.* (2013) em farinhas de sementes de amora-silvestre (*Rubus ulmifolius* S) (171,4 mgAGE.100g⁻¹), por Parry *et al.* (2006), que analisaram farinha de semente de seis tipos de frutas, obtendo teores variando de 14,6 a 186,3 mgAGE.100g⁻¹ e Bozan; Tosun; Özcan (2008), que estudaram TPC em 11 variedades de uvas principalmente cultivadas na Turquia, onde os valores nas farinhas das sementes variaram de 79,2 a 154,6 mg GAE.g⁻¹ semente.

O subproduto, FSP apresentou teor de compostos fenólicos totais inferior ao conteúdo do subproduto-cálice (1326,26 mgFA.100g⁻¹) desse fruto.

Para esta matriz não foram encontrados dados publicados sobre farinha de semente de *Physalis angulata*.

3.3. ÓLEO DA SEMENTE DE *Physalis angulata*

3.3.1. Composição de ácidos graxos do óleo extraído da farinha das sementes do fruto de *P. angulata*

A FSP contém 28,74 g.100g⁻¹ de fração lipídica, sendo superior aos teores de sementes de frutos utilizados para extração de óleo como óleo de oliva (25 g.100g⁻¹), soja (18 g.100g⁻¹) e algodão (18 g.100g⁻¹) (MORETTO; FETT, 1998). A composição dos ácidos graxos do óleo extraído da FSP (FIGURA 6) está apresentada na TABELA 5.



FIGURA 6 – ÓLEO EXTRAÍDO DAS SEMENTES DO FRUTO DE *Physalis angulata* L.

O ácido graxo majoritário no óleo foi o ácido linoleico (66,40 g.100g⁻¹) seguido do ácido oleico (18,68 g.100g⁻¹) e palmítico (11,07 g.100g⁻¹). A soma dos ácidos graxos insaturados (ácidos linoleico, oleico e palmitoleico) representa aproximadamente 85 % do

óleo extraído da farinha, caracterizando-o como ácido graxo predominantemente insaturado (PUFA).

O ácido linoleico (ω -6) é considerado do ponto de vista nutricional como ácido graxo essencial, sendo o ácido oléico (ω -9) o mais amplamente distribuído na natureza e encontrado praticamente em todos os óleos e gorduras. O ácido linoléico é o ácido graxo essencial mais conhecido e praticamente o mais importante, pois no organismo ele se transforma em ácido araquidônico e pequenas quantidades de outros ácidos graxos poli-insaturados (MORETTO; FETT, 1998).

TABELA 5 – ÁCIDOS GRAXOS DAS SEMENTES DE FRUTOS DE *Physalis angulata* L.

Ácidos graxos	Médias (g.100g ⁻¹) \pm desvio padrão
C16:0 (Palmítico)	11,07 \pm 0,61
C20:0 (Araquídico)	0,29 \pm 0,02
C18:0 (Esteárico)	3,06 \pm 0,24
C18:1n9c (Oleico)	18,68 \pm 0,84
C18:2n6c (Linoleico)	66,40 \pm 1,73
C16:1 (Palmitoleico)	0,50 \pm 0,02
* Σ ácidos graxos saturados	14,42
Σ ácidos graxos insaturados	85,58

* Σ = soma

Fazio *et al.* (2013) encontraram o ácido linoleico (15,34 g.100g⁻¹) como composto majoritário em óleo extraído da farinha de sementes de frutos de amora-silvestre. Fernandes *et al.* (2013) ao extraírem o óleo das sementes de dez variedades de uva, relataram o ácido linoleico (63,0 – 73,1 g.100g⁻¹) como o principal ácido graxo encontrado, seguido do ácido oleico e palmítico. Esses resultados foram semelhantes aos relatados por outros autores que se referem ao ácido linoleico como o ácido graxo mais abundante no óleo das sementes de uva. Tangolar *et al.* (2009) obtiveram valores para o ácido linoleico entre 62,5 e 69,24 g.100g⁻¹ para óleos de sementes de uva das variedades: Alicant e Bouschet e Muscat of Hamburgo, respectivamente. Beveridge *et al.* (2005) relatam valores entre 66,76 g.100g⁻¹ (Malbec) e 73,61 g.100g⁻¹ (Merlot). Florina *et al.* (2013) em sementes de uva da Romenia também encontraram como ácido graxo majoritário o ácido linoléico (4,49 g.100g⁻¹) seguido do ácido oleico (0,79 g.100g⁻¹). Resultados que corroboram com o presente estudo.

Como para a uva, o elevado teor de ácido linoleico no óleo da FSP é particularmente interessante, uma vez que o ácido linoleico é o principal ácido graxo que regula o metabolismo do LDL (WIJENDRAN; HAYES, 2004).

Não existem relatados resultados para o óleo da semente de *P. angulata*, porém Rodrigues *et al.* (2009) e Ramadan; Mörsel (2003) apresentaram para a fração lipídica de frutos de *Physalis peruviana* o teor de ácido linoléico próximos aos da FSP (72,42 g.100g⁻¹ e 70,5 g.100g⁻¹), respectivamente.

3.3.2. Fosfolipídeos

O teor de fosfolipídeo do óleo FSP (1,12 mg.g⁻¹) foi calculado através do conteúdo de fósforo da amostra (0,045 mg.g⁻¹) por meio do fator de conversão, segundo descrito no item 2.3.3.2.

Os fosfolipídios são lipídeos que contém, fósforo, uma porção polar (hidrofílica) e uma porção não-polar (hidrofóbica) em suas estruturas. Por essa razão são classificados como moléculas anfipáticas, apresentando excelente biocompatibilidade. Essas propriedades fazem com que os fosfolipídeos tenham uma gama ampla de aplicações e conferindo características emulsificantes e umectantes sendo comumente utilizados em diferentes tipos de formulações. Têm uma propensão para formar lipossomos, que podem ser empregados como transportadores de medicamentos. Nos últimos anos, uma grande variedade de formulações relacionadas com fosfolipídeos, tem sido utilizada para alcançar bons resultados (LI *et al.*, 2014).

4. CONCLUSÃO

A composição centesimal do cálice indicou elevado teor de lipídeos, proteínas e carboidratos. O flavonol majoritário, identificado por HPLC/MS, foi a rutina. Os resultados para TPC e DPPH foram aproximadamente 24 % e 50,54 % superiores aos relatados para o extrato metanólico do fruto de *P. angulata*.

Na farinha das sementes dos frutos de *P. angulata*, a composição centesimal sugere que a farinha pode ser utilizada como fonte para obtenção da fração lipídica. Dos minerais analisados, os macro-nutrientes (K, P, Mg e Ca) apresentaram elevados teores, seguidos dos micro-nutrientes (Fe, Zn e Cu), sendo o potássio o mineral majoritário. teor de TPC foi elevado comparado com outras farinhas de sementes de frutos.

A análise do óleo extraído das sementes dos frutos de *P. angulata*, indicou que o ácido graxo majoritário foi o ácido linoleico, seguido do ácido oleico e palmítico. A soma dos ácidos graxos insaturados (ácidos linoleico, oleico e palmitoleico) representa

aproximadamente 85 % do óleo extraído da farinha, caracterizando-o como ácido graxo predominantemente insaturado. O teor de fosfolípídeo sugere que o óleo extraído da farinha pode ser uma alternativa para extração desse componente.

Os dados obtidos neste estudo indicam que os subprodutos dos frutos de *P.angulata* podem ser utilizados como matéria-prima para elaboração de chás (cálice) e fonte de obtenção de ácidos graxos insaturados e minerais (farinha das sementes). Sugerem-se, ensaios biológicos destes subprodutos, pois nunca foram usados como alimentos.

5. REFERÊNCIAS

- ALTIOK, E.; BAYCIN, D.; BAYRAKTAR, O.; BAYRAKTAR, O.; ÜLKÜ, S. Isolation of polyphenols from the extracts of olive leaves (*Olea europaea* L.) by adsorption on silk fibroin. *Separation and Purification Technology*, v. 62, p. 342–348, 2008.
- ALVARADO, P. A.; BERDUGO, C. A.; FISHER, G. Efecto de un tratamiento de frío (a 1,5° C) y la humedad relativa sobre las características físico-químicas de frutos de uchuva *Physalis peruviana* L. durante el posterior transporte y almacenamiento. *Agronomía Colombiana*, v. 22, n. 2, p. 147-159, 2004.
- ANDRADE, E. F.; LEONE, R. S.; ELLENDERSEN, L. N.; MASSON, M. L. Phenolic profile and antioxidant activity of extracts of leaves and flowers of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). *Industrial Crops and Products*, v. 62, p. 499–506, 2014.
- ANTON, A. A.; ROSS, K. A.; BETA, T.; FULCHER, R. G.; ARNTFIELD, S. D. Effect of dehulling treatments on some nutritional and physical properties of navy and pintobean (*Phaseolus vulgaris* L.). *LWT - Food Science and Technology*, v. 41, n. 5, p. 771–778, 2008.
- AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International. 17th ed. Gaithersburg, 2000.
- AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International. 18th ed. Gaithersburg, Official Method 999.10, 2005.
- AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International. 18th ed. Gaithersburg, MD, USA, Official Method 986.15, 2011.
- AOCS. Official methods of AOCS International. 15th ed. Washington, D.C., USA, Official Method Ce 2-66, 1997.
- BENAVANTE-GARCIA, O.; CASTILHO, J.; LORENTE, J.; ORTUÑO, A.; DEL RIO, J. A. Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. *Food Chemistry*, v. 68, p. 457-462, 2000.
- BEVERIDGE, T. H. J.; GIRARD, B.; KOPP, T.; DROVER, J. C. G. Yield and composition of grape seed oils extracted by supercritical carbon dioxide and petroleum ether: Varietal effects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 53, p. 1799–1804, 2005.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-International Journal of Food Science & Technology*, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 40 de 21 de março de 2001. Aprova o regulamento técnico referente a rotulagem nutricional obrigatória de alimentos embalados. *Diário Oficial da União*, Brasília 22 mar, 2001. Seção 1. 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos. Brasília: Ministério da Saúde, Ed. IV. Série A. Normas e Manuais Técnicos – Instituto Adolfo Lutz, p. 1018, 2005.

BOLZAN, R. P.; CUQUEL, F. L.; LAVORANTI, O. J. Armazenamento refrigerado de *Physalis*. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, p. 577-583, 2011.

BOZAN, G.; TOSUN, G.; ÖZCAN, D. Study of polyphenol content in the seeds of red grape (*Vitis vinifera* L.) varieties cultivated in Turkey and their antiradical activity. *Food Chemistry*, v. 109, p. 426–430, 2008.

CARELLI, A. A.; CECI, L. N.; CRAPISTE, G. H. Phosphorus-to-phospholipid conversion factors for crude and degummed sunflower oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 79, p. 1177-1180, 2002.

CECCHI, H. M. Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Ed. UNICAMP, 2º ed. SP, 2003.

CELLI, B. G.; PEREIRA-NETTO, A. B.; BETA, T. Comparative analysis of total phenolic content, antioxidant activity, and flavonoids profile of fruits from two varieties of Brazilian cherry (*Eugenia uniflora* L.) throughout the fruit developmental stages. *Food Research International*, v. 44, p. 2442–2451, 2011.

CHAPMAN, G. W. A conversion fator to determine phospholipid contente in soybean and sunflower crude oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 57, p. 299-302, 1980.

CHEN, Li-Xia; XIA, Gui-Yang; LIU, Qing-Yin; XIE, Yao-Yao; QIU, Feng. Chemical constituents from the calyces of *Physalis alkekengi* var. *franchetii*. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 54, p. 31–35, 2014.

CLERICI, M. T. P. S.; KALLMANN, C.; GASPI, F. O. G.; MORGANO, M. A.; MARTINEZ-BUSTOS, F.; CHANG, Y. K. Physical, chemical and technological characteristics of *Solanum lycocarpum* A. St. - HILL (Solanaceae) fruit flour and starch. *Food Research International*, v. 44, p. 2143–2150, 2011.

DUTRA, G. F. L.; RIBANI, R. H. Determinação de compostos fenólicos por cromatografia líquida de alta eficiência. *Química Nova*, v. 33, p. 119-123, 2010.

ERLUND, I. Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutrition Research*, v. 24, p. 851 – 874, 2004).

FAZIO, A.; PLASTINA, P.; MEIJERINK, J.; WITKAMP, R.; GABRIELE, B. Comparative analyses of seeds of wild fruits of *Rubus* and *Sambucus* species from Southern Italy: Fatty acid composition of the oil, total phenolic content, antioxidant and anti-inflammatory properties of the methanolic extracts. *Food Chemistry*, v. 140, p. 817–824, 2013.

FERNADES, L.; CASAL, S.; CRUZ, R.; PEREIRA, J. A.; RAMALHOSA, E. Seed oils of ten traditional Portuguese grape varieties with interesting chemical and antioxidant properties. *Food Research International*, v. 50 p. 161–166, 2013.

FILIPI R.; LÓPEZ, P.; GIBERTI, G.; COUSSIO, J.; FERRARO, G. Phenolic compounds in seven South American *Ilex* species. *Fitoterapia*, v. 72, p. 774–778, 2001.

FISCHER, G.; LÜDDERS, P. Developmental changes of carbohydrates in cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) fruits in relation to the calyx and the leaves. *Agronomía Colombiana*, v. 14, n. 2, p. 95–107, 1997.

FLORINA, M. M.; RAMONA, G.; ERSILIA, A.; MARIANA, P. A.; MELINDA, O. Determination of the nutritional properties from grape seed flour. *European Biotechnology Congress*, v. 24, p. 115, 2013.

FRANCO, L. A.; MATIZ, G. E.; CALLE, J.; PINZÓN, R.; OSPINA, L. F. Actividad antiinflamatoria de extractos y fracciones obtenidas de cálices de *Physalis peruviana* L. *Biomédica*, p. 110–115, 2007.

FRIZON, C. N. T.; OLIVEIRA, G. A.; PERUSSELLO, C. A.; PERALTA-ZAMORA, P. G.; CAMLOFSKI, A. M. O.; ROSSA, Ü. B.; HOFFMANN-RIBANI, R., Determination of total phenolic compounds in yerba mate (*Ilex paraguariensis*) combining near infrared spectroscopy (NIR) and multivariate analysis, *LWT - Food Science and Technology*. doi: 10.1016/j.lwt.2014.10.030., 2014.

GALVIS, J. A.; FISCHER, G.; GORDILLO. Cosecha e poscosecha de la uchuva. In: Producción, poscosecha y exportación de la uchuva *Physalis peruviana* L.. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia, Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural y Asociación Hortifrutícola de Colombia, p. 165–188, 2005.

GAO, L.; WANG, S.; OOMAH, B. D.; MAZZA, G. Wheat quality: Antioxidant activity of wheat mill streams. In P. K. W. Ng, & C.W. Wrigley (Eds.), *Wheat Quality Elucidation: The Bushuk legacy* (pp. 219–233) (1st ed.). St. Paul, MN, USA: American Association of Cereal Chemists International, 2002.

HERRERA, A. Manejo poscosecha. p. 109–127. En: Flórez, V.J., G. Fischer y A.D. Sora (eds.). *Producción, poscosecha y exportación de la uchuva (Physalis peruviana L.)*. Unibiblos, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. 175p., 2000.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. The Chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal Agricultural Food Chemistry*, v. 53, p. 1841–56, 2005.

IAL, Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. São Paulo: O Instituto, v. 1, 3.ed., 1985.

ICONTEC. Frutas frescas: uchuva. Especificaciones. Bogotá: Instituto Colombiano de Normas Técnicas, 1999.15p. (Norma técnica Colombiana, 4580), 1999.

KAZŁOWSKA, K.; HSU, T.; HOU, C.; YANG, W.; TSAI, G. Anti-inflammatory properties of phenolic compounds and crude extract from *Porphyra dentate*. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 128, p. 123–130, 2010.

LEE OK-HWAN; BOO-YONG LEE; JUNSOO LEE ; HEE-BONG LEE; JONG-YOUN SON ; CHEON-SEOK PARK; KALIDAS SHETTY; YOUNG-CHEUL KIM. Assessment of phenolics-enriched extract and fractions of olive leaves and their antioxidant activities. *Bioresource Technology*, v. 100, p. 6107–6113, 2009.

LICODIEDOFF, S., KOSLOWSKI, L. A. D., RIBANI, R. H. Flavonols and antioxidant activity of *Physalis peruviana* L. fruit at two maturity stages. *Acta Scientiarum*, Maringá, v. 35, n. 2, p. 393-399, 2013.

LIMA, B. N. B; LIMA, F. F.; TAVARES, M. I. B.; COSTA, A. M. M.; PIERUCCI, A. P. T. R. Determination of the centesimal composition and characterization of flours from fruit seeds. *Food Chemistry*, v. 151, p. 293–299, 2014.

LI, J.; WANG, X.; ZHANG, T.; WANG, C.; HUANG, Z.; LUO, X.; DENG, Y. A review on phospholipids and their main applications in drug delivery systems. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajps.2014.09.004>, 2014.

LIU, R. H. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *American Journal Clinical Nutrition*, v. 78, p. 517–520, 2003.

MAGALHÃES, H. I. F. Atividade antitumoral (*in vitro* e *in vivo*) das fisalinas isoladas de *physalis angulata* lin. Dissertação de mestrado em farmacologia, departamento de fisiologia e farmacologia, Universidade Federal do Paraná, 101p., 2005.

MOON, P.; KIM, H. Suppression of thymic stromal lymphopoietin production by rutin in mast cells. *Food Chemistry*, v. 133, p. 76–81, 2012.

MORETTO, E.; FETT, R. Tecnologia de óleos e gorduras na indústria de alimentos. Ed. Varela, São Paulo, 1998.

NOUR, V.; TRANDAFIR, I.; COSMULESCU, S. Antioxidant capacity, phenolic compounds and minerals content of blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) leaves as influenced by harvesting date and extraction method. *Industrial Crops and Products*, v. 53, p. 133– 139, 2014.

PARRY, J. W.; SU, L.; LUTHER, M.; ZHOU, K.; YURAWECZ, M. P.; WHITTAKER, P.; YU, L. Fatty acid content and antioxidant properties of cold-pressed marionberry, boysenberry, red raspberry, and blueberry seed oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 53, p. 566–573, 2005.

PARRY, J.; SU, L.; MOORE, J.; CHENG, Z.; LUTHER, M.; RAO, J. N.; WANG, J. H., YU, A. L. Chemical compositions, antioxidant capacities, and antiproliferative activities of selected fruit seed flours. *Journal Agricultural Food Chemistry*, v. 54, n. 11, 2006

PETRUZELLIS, V.; TROCCOLI, T.; CANDIANI, C.; GUARISCO, R.; LOSPALLUTI, M.; BELCARO, G.; MARK, D. Oxerutins (Venoruton®): Efficacy in Chronic Venous Insufficiency A Double-Blind, Randomized, Controlled Study. *Angiology*, v. 53, p. 257-263, 2002.

PRIOR, R. L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 53, p. 4290-302, 2005.

RAMADAN, M.; MÖRSEL, J. T. Oil Goldenberry (*Physalis peruviana* L.). *Journal Agricultural Food Chemistry*, v. 51, p. 969–974, 2003.

REPO-DE-CARRASCO R.; ENCINA-ZELADA C. R. Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas Peruanas. *Revista de la Sociedad Química de Perú*, v. 74, n. 2, p. 108-124, 2008.

RIBANNI. H. R. Compostos fenólicos em erva-mate e frutas. Tese de doutorado em Ciência de Alimentos. Departamento de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas, 101p., 2006.

RODRIGUES, E.; ROCKENGACH, I. I.; CATANEO, C.; GONZAGA, L. V.; CHAVES, E. S.; FETT, R. Minerals and essential fatty acids of the exotic fruit *Physalis peruviana* L. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 29, n. 3, p. 642-645, 2009.

RUFATO, L.; RUFATO, A. R.; SCHELEMPER, C.; LIMA, C. S. M.; KRETZSCHMAR, A. A. Aspectos técnicos da cultura da physalis. Lages: CAV/UDESC, Pelotas: UFPel. 100p., 2008.

SANTOS, C. M., ABREU, C. M. P., FREIRE, J. M., QUEIROZ, E. R., MENDONÇA, M. M. Chemical characterization of the flour of peel and seed from two papaya cultivars. *Food Science Technology*, Campinas, v. 34, n. 2, p. 353-357, 2014.

SILVA, E. B.; CANDIDO, L. M. B.; SABINO, J.; FREITAS, R. J. S.; STERTZ, S. C. Composição química da raiz e das folhas desidratadas do yacon. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*. Botucatu, v. 6, p. 48-52, 2004.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, v. 16, n. 3, p. 144–158, 1965.

STORCK, C. R.; NUNES, G. L.; OLIVEIRA, B. B.; BASSO, C. Folhas, talos, cascas e sementes de vegetais: composição nutricional, aproveitamento na alimentação e análise sensorial de preparações. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 43, n. 3, p. 537-543, 2013.

SOUZA, C. L. M.; SOUZA, M. O.; OLIVEIRA, M. F.; OLIVEIRA, L. M.; PELACANI, C. R. Morfologia de sementes e desenvolvimento pós-seminal de *Physalis angulata* L. Acta Botânica Brasilica, v. 24, n. 4, p. 1082-1085, 2010.

TANGOLAR, S. G.; OZOGUL, Y.; TANGOLAR, S.; TORUN, A. Evaluation of fatty acid profiles and mineral content of grape seed oil of some grape genotypes. International Journal of Sciences and Nutrition, v. 60, p. 32–39, 2009.

WIJENDRAN, V.; HAYES, K. C. Dietary n–6 and n–3 fatty acid balance and cardiovascular health. Annual Review of Nutrition, v. 24, p. 597–615, 2004.

CAPÍTULO 4

EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS POLISSACARÍDEOS DOS FRUTOS DE *Physalis angulata L.*

EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS POLISSACARÍDEOS DOS FRUTOS DE *Physalis angulata* L.

Ana Mery de Oliveira-Camlofski^a, Rosemary Hoffmann Ribani^a, Carmen Lúcia de Oliveira Petkowicz^b

^aPrograma de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, 81531-980 Curitiba, Pr, Brasil.

^bDepartamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal do Paraná, Caixa Postal: 19046, 81531-990, Curitiba, Pr, Brasil.

RESUMO

Physalis angulata L. (Família *Solanaceae*) é um fruto nativo da Amazônia amplamente utilizado na medicina popular. Embora diferentes metabólitos secundários já tenham sido identificados na planta os frutos tem recebido menor atenção. Neste estudo foi realizada a caracterização físico-química os frutos de *Physalis angulata*. Os polissacarídeos dos frutos foram obtidos utilizando extrações sequenciais com diferentes solventes e as frações polissacarídicas caracterizadas. O fruto apresentou elevado teor de umidade e alta atividade de água. A razão SS/ATT determinada foi 25,14 indicando um fruto sensorialmente mais adocicado para o consumidor. Para as análises dos polissacarídeos, os frutos frescos foram submetidos à inativação enzimática com etanol. O resíduo obtido foi submetido a extrações sequenciais com água (fração W), soluções aquosas de EDTA (fração ED), ácido cítrico (fração CA) e de hidróxido de sódio (frações 2M e 6M). As extrações aquosas (W, ED e CA) solubilizaram principalmente pectinas, enquanto que as alcalinas (2M e 6M) apresentaram xilose como componente majoritário indicando a presença de xilanas. As frações polissacarídicas obtidas apresentaram rendimento entre 1,1 a 6,5 g.100⁻¹ em relação ao material de partida. A análise por cromatografia de exclusão estérica (HPSEC) demonstrou um perfil de eluição polimodal para todas as frações, sugerindo a presença de uma mistura de polissacarídeos. O grau de esterificação das pectinas foi analisado por espectroscopia de infravermelho (FT-IR), onde as frações W e ED apresentaram baixo grau de esterificação (LM) e a fração CA apresentou alto grau de esterificação (HM). A análise de espectroscopia de ¹³C-RMN confirmou a presença de pectinas nas frações W, ED e CA. As análises reológicas das frações W, ED e CA solubilizadas em água na concentração de 5 g.100g⁻¹ mostraram um comportamento de fluxo do tipo pseudoplástico. A fração ED apresentou os maiores valores de viscosidade aparente. As análises oscilatórias dinâmicas mostraram predomínio do caráter líquido para a fração W, caráter sólido para a fração ED e a fração CA mostrou-se sensível a variação de frequência, sofrendo perturbações em toda a faixa de frequência analisada.

Palavras-chave: *Physalis angulata* L., polissacarídeos, pectina, caracterização físico-química

EXTRACTION AND CHARACTERISTICS OF POLYSACCHARIDES FROM FRUIT *Physalis angulata* L.

^a Graduate Program in Food Engineer, Chemical Engineering Department, Paraná Federal University, 81531-980 Curitiba, PR, Brazil

^b Department of Biochemistry and Molecular Biology, Paraná Federal University, CP 19046, CEP 81531-980, Curitiba, PR, Brazil.

ABSTRACT

Physalis angulata L. (Solanaceae family) are a native Amazonian fruit widely used in folk medicine. Although various secondary metabolites have been identified in the plant the fruit has received less attention. In this study the physico-chemical characterization was performed the fruits of *Physalis angulata*. Polysaccharides from fruits were obtained using sequential extractions with different solvents and characterized polysaccharide fractions. The result showed a high moisture content and high water activity. The SS/ATT (25.14) was determined indicating a fruit sensory sweeter to the consumer. For analysis of polysaccharides, fresh fruits were submitted to enzymatic inactivation with ethanol. The residue obtained was subjected to successive extractions with water (fraction W), aqueous EDTA (fraction ED), citric acid (fraction CA) and sodium hydroxide (fraction 2M, and 6M). Aqueous extractions (W, ED and CA) mainly solubilized pectins, while the alkaline (2M, and 6M) showed major component xylose as indicating the presence of xylan. The obtained fractions showed polysaccharide yield between 1.1 to 6.5 g.100⁻¹ relative to the starting material. The analysis by steric exclusion chromatography (HPSEC) showed an elution profile polymodal all fractions, suggesting the presence of a mixture of polysaccharides. The degree of esterification of pectin was analyzed by infrared spectroscopy (FT-IR), where W and ED fractions exhibited a low degree of esterification (LM) and CA fraction showed a high degree of esterification (HM). Analysis of ¹³C-NMR spectroscopy confirmed the presence of pectins in fractions W, ED and CA. The rheological behavior of fractions W, ED and CA solubilized in water at a concentration of 5 g.100g⁻¹ showed flow behavior of pseudoplastic type. The ED fraction showed the highest values of apparent viscosity. The oscillatory dynamics analysis showed predominance of character for liquid fraction W, solid character for ED fraction and the CA fraction was sensitive to frequency variation, suffering disruptions throughout the frequency range analyzed.

Keywords: *Physalis angulata* L., polysaccharides, pectin, physico-chemical

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Physalis* inclui cerca de 120 espécies e pertence à família Solanaceae (CHEN *et al.*, 2014). Entre as espécies mais conhecidas estão: *Physalis angulata* L., *Physalis peruviana* L., *Physalis alkekengi* L., *Physalis pubescens* L., *Physalis pruinosa*, *Physalis ixocarpa*, e *Physalis angustifolia* Nutt. (RUFATO *et al.*, 2008). *Physalis angulata* L. (*P. angulata*) é considerada uma espécie nativa da América do Sul, sendo amplamente distribuída por todas as regiões tropicais e subtropicais (ALVARADO *et al.*, 2004; MAGALHÃES, 2005; MUNIZ *et al.*, 2011).

Popularmente conhecida no Brasil como camapu, a *P. angulata* possui frutos climatéricos, carnosos tipo baga em forma de globo envolto por um cálice que serve para protegê-lo de condições ambientais adversas (ALVARADO *et al.*, 2004; MAGALHÃES, 2005; RUFATO *et al.*, 2008). Os frutos podem ser consumidos *in natura* ou na forma de sucos e doces, apresentando grande potencial para produção e cultivo comercial no Brasil (ALVARADO *et al.*, 2004; MUNIZ *et al.*, 2011; PEIXOTO *et al.*, 2010). Além disto, parte do interesse pela planta reside em suas propriedades medicinais.

A planta de *P. angulata* é utilizada em vários países na medicina popular para problemas urinários, asma, reumatismo e cicatrização de feridas, entre outros. Diversas atividades biológicas têm sido demonstradas para extratos e compostos bioativos obtidos do caule, raízes e partes aéreas da planta. Já foram descritas atividade imunomodulatória (SOARES *et al.*, 2003), antitumoral (WU *et al.*, 2004; HSIEH *et al.*, 2006), antinociceptiva (BASTOS *et al.*, 2006; CHOI; HWANG, 2003), anti-inflamatória (CHOI; HWANG, 2003), anti-malária (LUSAKIBANZA *et al.*, 2010), anti-metástase (HSEU *et al.*, 2011), anti-angiogênica (HSEU *et al.*, 2011) e anti-microbiana (PIETRO *et al.*, 2000), incluindo atividade anti-Leishmania (NOGUEIRA *et al.*, 2013). Além disto, uma patente (PI11041773) propõe que extratos da planta e compostos isolados podem atuar estimulando o crescimento de neurônios (NASCIMENTO, 2012).

Vários compostos já foram isolados das folhas e troncos de *P. angulata* e quimicamente caracterizados: um grupo de esteróides conhecidos como fisalinas, flavonoides e glicosídeos (TOMASSINI *et al.*, 2000). Embora diferentes metabólitos secundários já tenham sido identificados em plantas de *P. angulata*, os frutos têm recebido menor atenção. A composição centesimal de frutos colhidos na região Amazônica foi determinada por Oliveira *et al.* (2011). A atividade antioxidante de extratos aquosos e metanólicos do fruto foram avaliadas pelos mesmos autores utilizando o método de sequestro de radical livre (DPPH[•]).

Os autores não observaram diferença na capacidade de sequestro de radical livre dos dois extratos e os valores de IC₅₀ foram superiores ao descrito para extratos metanólicos obtidos de frutos de *Physalis peruviana*.

Após ampla revisão bibliográfica, nenhum estudo foi encontrado na literatura em relação aos polissacarídeos dos frutos de *P. angulata*.

As frutas são fontes de fibras, oriundas da parede celular, responsáveis pela textura. A firmeza dos tecidos das plantas é determinada por três tipos de polissacarídeos presentes na parede celular: celulose, hemiceluloses e pectinas (VAN BUREN, 1979).

As pectinas são polissacarídeos ácidos que compreendem três classes principais de polímeros: homogalaturonana (HG), ramnogalacturonana I (RG-I) e ramnogalacturonana II (RG-II). Entre esses, a HG e a RG-I são encontrados em grandes quantidades em frutos (VORAGEN *et al.*, 1995; CARPITA; McCANN, 2000). São extraídas da parede celular por soluções aquosas de agentes quelantes ou ácidos diluídos sob aquecimento.

As hemiceluloses são os polissacarídeos que se associam a celulose por ligações de hidrogênio. Este grupo inclui as xiloglucanas, xilanas, (galacto)mananas e (galacto)glucomananas (CARPITA; MACCANN, 2000). Podem ser extraídas da parede celular com soluções alcalinas após a remoção das pectinas.

Além de suas funções relacionadas a texturas dos frutos e sua relação com a maturação, os polissacarídeos atraem a atenção devido as suas propriedades físico-químicas e biológicas. As propriedades espessantes e geleificantes exibidas por alguns polissacarídeos, como as pectinas, permitem com que sejam amplamente utilizadas na indústria de alimentos, cosméticos e farmacêutica. Por outro lado, propriedades imunomoduladoras e antitumorais apresentados por certos polissacarídeos (SCHEPETKIN; QUINN, 2006) sugerem que a presença destes compostos possa trazer benefícios adicionais à saúde, além daqueles já conhecidos associados às fibras vegetais.

Neste trabalho, os polissacarídeos dos frutos de *P. angulata* foram obtidos utilizando extrações sequenciais com diferentes solventes e as frações polissacarídicas caracterizadas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. FRUTOS DE *Physalis angulata* L.

Os frutos foram plantados e coletados na estação experimental da Universidade Federal do Paraná, localizada em Quatro Barras, Região Metropolitana de Curitiba, localizado

a 25°17'30" de latitude sul e 49°13'27" de longitude oeste, altitude de 930 metros e clima classificado por Köppen de Cfb. A planta da *P. angulata* foi identificada no Museu Botânico de Curitiba (Paraná-Brasil), onde foi depositada uma exsicata sob o número 384015.

Os frutos maduros foram colhidos manualmente 80 dias após o plantio (nos meses de março e abril) e selecionados de acordo com a intensidade da coloração do epicarpo por inspeção visual. Quando o epicarpo estava totalmente amarelo ou amarelo-arroxado os frutos eram considerados maduros.

2.2. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

O teor de umidade foi determinado por gravimetria a 105 °C em estufa até peso constante (BRASIL, 2005) e o teor de cinzas conforme IAL (1985).

As demais determinações da composição centesimal empregaram os procedimentos descritos pela AOAC (2000), sendo que a determinação de lipídeos foi realizada pelo método de extração em Soxhlet; o teor de proteína por Kjeldahl. A fibra bruta foi determinada utilizando o método gravimétrico e o teor de ácido ascórbico (vitamina C) foi determinado por volumetria de oxi-redução com titulação das amostras com solução 2,6-dicloro-fenol-indofenolsódico.

O conteúdo de sólidos solúveis totais nas amostras foi determinado utilizando-se um refratômetro de bancada (RL3 – Polskie Zakłady Optyczne SA), sendo os resultados expressos em °Brix. A acidez total titulável das amostras foi quantificado por titulação sendo os resultados expressos em porcentagem de ácido cítrico (BRASIL, 2005).

Para a determinação de pH foi realizada leitura em potenciômetro (MSTECNOPON modelo mPA 210) e os resultados expressos em unidades de pH (BRASIL, 2005).

O teor de carboidratos totais foi determinado pelo método fenol-sulfúrico (DUBOIS *et al.*, 1956) e o teor de açúcares redutores pelo método DNS (ácido-di-nitro-salicílico) (AOAC, 2000). A dosagem de amido foi realizada utilizando-se kit enzimático Megazyme - K-TSTA 07/11 (*Determination of starch in cereal and food products not containing resistant starch, D-glucose and/or maltodextrins – AOAC Official Method 996.11*), sendo os resultados expressos em porcentagem.

2.3. EXTRAÇÃO DOS POLISSACARÍDEOS

Os frutos frescos foram triturados com etanol em liquidificador e submetidos a inativação enzimática sob refluxo em ebulição, durante 20 min. O material foi resfriado e

filtrado em filtro sintético e seco em estufa a vácuo, obtendo-se o resíduo insolúvel em álcool (AIR), material de partida para a obtenção dos polissacarídeos.

O AIR foi submetido a extrações sequenciais com água, EDTA 2 %, ácido cítrico 2 %, NaOH 2 mol.L⁻¹ e NaOH 6 mol.L⁻¹, conforme apresentado na FIGURA 1. As sucessivas extrações foram realizadas sob agitação mecânica. As extrações alcalinas foram realizadas na presença de boroidreto de sódio. Após cada extração, as dispersões foram centrifugadas separando o sobrenadante do resíduo, utilizado para as extrações subsequentes. O sobrenadante das extrações foi concentrado e os polissacarídeos foram precipitados utilizando três volumes de etanol. Os extratos alcalinos foram neutralizados previamente. Após a precipitação, o material foi mantido em repouso por 24h sob refrigeração. O material precipitado foi lavado três vezes com etanol absoluto, centrifugado e seco em estufa a vácuo, originando as respectivas frações polissacarídicas (LIMA *et al.*, 2014).

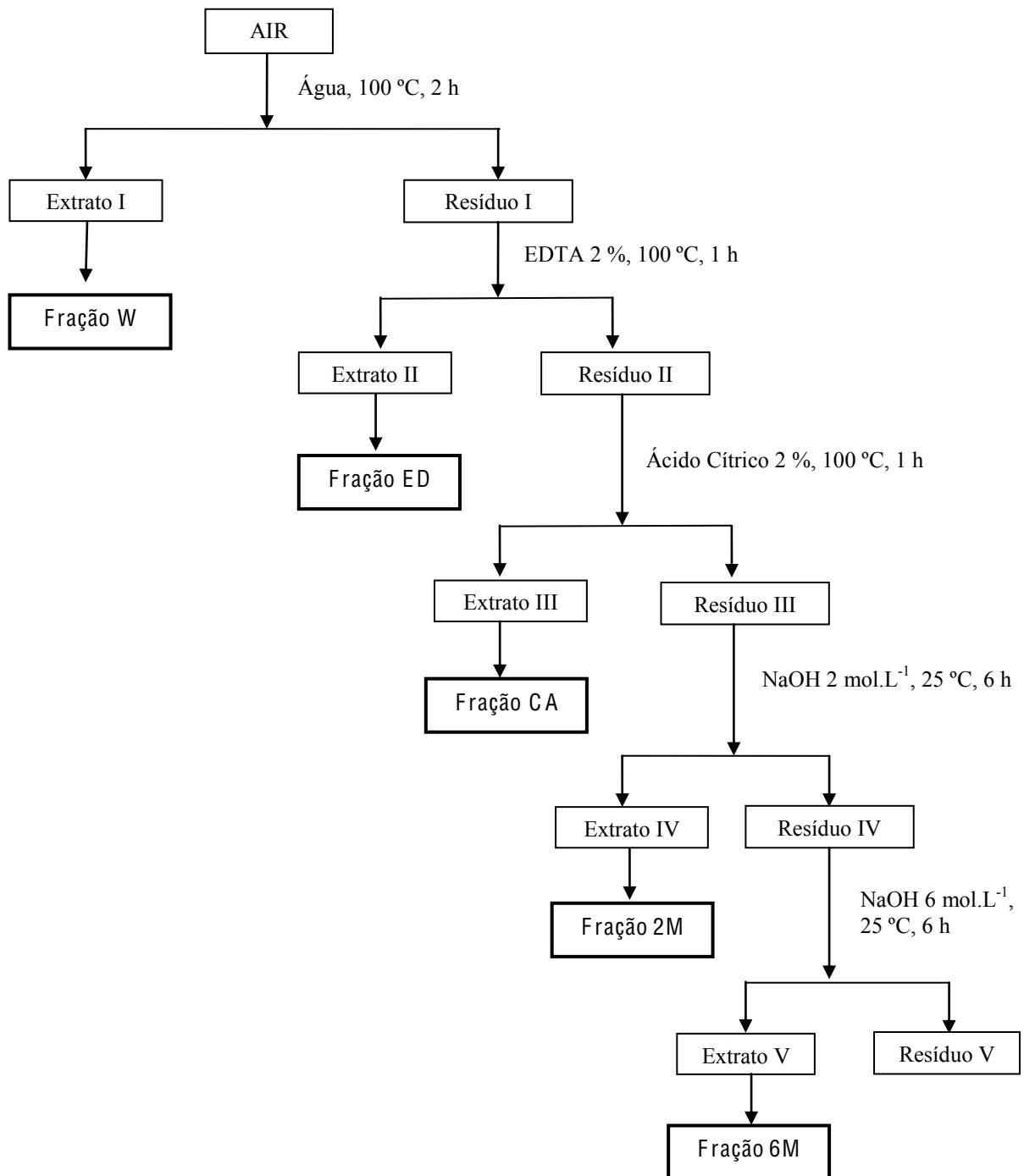


FIGURA 1: FLUXOGRAMA DE EXTRAÇÃO DOS POLISSACARÍDEOS DOS FRUTOS DE *P. angulata*.
 Nota: Fração W = polissacarídeo extraído com água; Fração ED = polissacarídeo extraído com EDTA 2 %; Fração CA = polissacarídeo extraído com ácido cítrico 2 %; Fração 2M = polissacarídeo extraído com NaOH 2 mol.L⁻¹; Fração 6M = polissacarídeo extraído com NaOH 6 mol.L⁻¹;

2.4. DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO MONOSSACARÍDICA

Para determinação da composição monossacarídica, os polissacarídeos foram hidrolisados com ácido trifluoracético 2 mol.L^{-1} por 8h em banho-maria fervente (ADAMS, 1965; ASPINALL, 1980). Após a hidrólise, o ácido foi evaporado e o hidrolisado reduzido com boroidreto de sódio (WOLFROM; THOMPSON, 1963b). Em seguida adicionou-se resina trocadora de cátions (Lewatit) na forma ácida para decompor o excesso de agente redutor e remover os cátions sódio. Após filtração, o material foi evaporado até securo, em evaporador rotatório, seguido de adição de metanol para remoção do boro, na forma de borato de trimetila. Os alditóis resultantes foram acetilados com uma mistura de piridina e anidrido acético (1:1, v/v) por 16h (WOLFROM; THOMPSON, 1963a). A reação foi interrompida pela adição de gelo moído. Os produtos acetilados foram extraídos com clorofórmio e lavados com solução de sulfato de cobre 5% para remover a piridina. Os acetatos de alditóis resultantes foram analisados por cromatografia gasosa (GLC). Os monossacarídeos ácidos foram determinados pelo método colorimétrico (BLUMENKRANTZ; ASBOE-HANSEN, 1973) usando ácido galacturônico como padrão.

2.4.1. Cromatografia líquida-gasosa (GLC)

A cromatografia líquido-gasosa (GLC) foi realizada em um cromatógrafo THERMO Trace GC Ultra, equipado com detector de ionização em chama, utilizando hélio como gás de arraste, com fluxo de 1 ml/min. Uma coluna capilar de sílica fundida DB-225 [30 m x 0,25 mm (d.i.)] foi usada (SLONEKER, 1972).

2.4.2. Cromatografia de exclusão estérica acoplada a detecção por espalhamento de laser multiângulos e índice de refração (HPSEC-MALLS/RI)

As análises de homogeneidade foram efetuadas em um cromatógrafo de exclusão estérica de alta pressão (HPSEC), equipado com detector de índice de refração (RI) diferencial *Waters* modelo 2410 e detector de espalhamento de luz em multiângulos (MALLS) *Wyatt Technology* modelo DAWN DSP, com 18 canais acoplados em série. Foram utilizadas quatro colunas de gel permeação *Waters* em série, com limites de exclusão de 7×10^6 , 4×10^5 , 8×10^4 e 5×10^3 g/mol. O eluente utilizado foi uma solução de NaNO_2 0,1 M

contendo NaN_3 200 ppm a 25 °C, com fluxo de 0,6 ml/min, pressão de 920 psi, monitorados por bomba peristáltica *Waters* 515. Para análise dos dados foi utilizado o programa ASTRA.

2.4.3. Espectroscopia de infravermelho (FT-IR)

Os espectros de infravermelho foram obtidos no modo absorbância na região de 4000–400 cm^{-1} , usando espectrofotômetro Vertex 70, marca Brucker com resolução a 4 cm^{-1} , utilizando-se as amostras secas e pulverizadas. Para preparar as pastilhas foi usado brometo de potássio (grau espectroscópico) (Merck, Darmstadt, Alemanha) na proporção KBr:amostra de 99:1. Foram utilizados para o cálculo do grau de esterificação das pectinas (DE) as áreas dos picos, correspondentes a absorção dos grupos carboxílicos esterificados e livres, como descrito por Vriesmann; Petkowicz (2009).

2.4.4. Espectroscopia ressonância magnética nuclear de ^{13}C (^{13}C -RMN)

As frações de pectina foram solubilizadas em óxido de deutério (D_2O) e os espectros foram obtidos em equipamento BRUKER, modelo AVANCE DRX-400 em 100 MHz a 70 °C. Os deslocamentos foram expressos em ppm, utilizando a ressonância dos grupos CH_3 da acetona como padrão interno (δ 30,2).

2.5. REOLOGIA

2.5.1. Preparo das amostras

As soluções de pectinas (amostras W, ED e CA) foram solubilizadas em água deionizada por 16 h sob agitação magnética na concentração 5 % (m/m), (MIN *et al.*, 2011).

5.5.2. Análises Reológicas

As medidas reológicas foram realizadas em Reômetro Haake Mars, acoplado a um banho termostatizado Haake K15 e a um termocirculador de água DC5. A temperatura das análises foi mantida por controlador térmico Thermo Haake UTM. Foi utilizado um sensor cone-placa (C60 2Ti). Previamente às análises reológicas, foi determinada a inércia para descontar os valores das forças centrífuga e centrípeta geradas durante os experimentos. Durante as análises, a temperatura ambiente manteve-se em $20 \pm 1^\circ\text{C}$. Inicialmente foram realizadas varreduras de tensão para verificação da faixa viscoelástica linear e seleção da

tensão ou deformação que seriam empregadas nas análises de varredura de frequência. As varreduras de frequência foram conduzidas na tensão ou deformação pré-selecionada, aumentando a frequência oscilatória com o tempo na faixa de 0,1 a 30 Hz. As curvas de viscosidade aparente foram realizadas a 25 °C na faixa de 0,1-100 s⁻¹. Os dados foram coletados e tratados pelo software RHEOWIN.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS FRUTOS DE *P. angulata*

Os frutos maduros de *P. angulata* foram colhidos 80 dias após o plantio e a polpa utilizada para realização das análises físico-químicas e extração dos polissacarídeos. Foi observado que os frutos não amadurecem ao mesmo tempo, sendo comum encontrar frutos em diferentes estádios de maturação no mesmo ramo.

O *P. angulata* é um fruto carnoso tipo baga em forma de globo (FIGURA 2), com diâmetro variando entre 1,25 e 2,50 cm e de acordo com Rufato *et al.* (2008) contém de 100 a 300 sementes.



FIGURA 2 – FRUTO DE *Physalis angulata* L.
FONTE: O AUTOR

O fruto de *P. angulata* apresentou elevado teor de umidade (83,68 g.100g⁻¹) e alta atividade de água (Aw) (0,98), característica comum em frutos carnosos. Estes valores foram semelhantes aos encontrados por Oliveira *et al.* (2011) para frutos da mesma espécie colhidos na região Amazônica bem como para frutos de *P. peruviana* (TABELA 1) (RAMADAN; MOERSEL, 2007; LICODIEDOFF; KOSLOWSKI; RIBANI, 2013; ZHANG *et al.*, 2013).

De acordo com Chitarra; Chitarra (2005), a água, em geral, é o maior componente dos frutos, perfazendo um total de 80-95 % de sua composição.

O fruto de *P. angulata*, apresentou baixos teores de cinzas ($1,83 \text{ g.100g}^{-1}$), proteínas ($1,86 \text{ g.100g}^{-1}$) e lipídeos ($0,30 \text{ g.100g}^{-1}$), como os valores relatados por Oliveira *et al.* (2011) para frutos *P. angulata* colhidos na região Amazônica, Mendoza; Rodríguez; Millán (2012) e Zhang *et al.* (2013) para frutos de *P. peruviana* (TABELA 1). Segundo Chitarra; Chitarra (2005), baixos teores de cinzas, proteínas e lipídeos são características comuns para a maioria dos frutos. Com base nas informações da composição centesimal e utilizando o teor de açúcares solúveis totais a ingestão de 100g dos frutos contribui com 42,14 kcal na dieta.

Os valores de sólidos solúveis ($8,8^\circ \text{ Brix}$) e acidez titulável ($0,35 \text{ mg.100 g}^{-1}$) obtidos para os frutos de *P. angulata* neste trabalho foram inferiores aos relatados por outros estudos conforme apresenta a TABELA 1. A relação entre sólidos solúveis (SS) e acidez total titulável (ATT), é uma das formas mais utilizadas para a avaliação do sabor dos frutos, sendo mais representativa do que a medição isolada de açúcares e de acidez (CHITARRA; CHITARRA, 2005). A razão SS/ATT encontrada para *P. angulata* 25,14 foi superior àquela determinada por Licodiedoff (2012) para *P. peruviana* (9,1) indicando que o *P. angulata* é um fruto sensorialmente mais adocicado para o consumidor. A relação SS/ATT elevada é desejável para o mercado consumidor de frutas frescas, pois indica altos teores de sólidos solúveis e baixa acidez, conferindo sabor agradável, o que torna as frutas mais atrativas (CORREIA *et al.*, 2011).

TABELA 1 – CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO FRUTO DE *Physalis angulata* L. EM COMPARAÇÃO COM A LITERATURA.

Análises	Presente estudo	Outros autores	
	<i>Physalis angulata</i> L.	<i>Physalis angulata</i> L.	<i>Physalis peruviana</i>
	Médias \pm desvio padrão		
Umidade (g.100g ⁻¹)	83,68 \pm 0,61	(90,98) ^a	(92,97) ^b ; (82,66) ^c ; (80,97) ^d
Cinzas (g.100g ⁻¹)	1,83 \pm 0,30	(0,65) ^a	(1,0) ^e
Proteína (g.100g ⁻¹)	1,86 \pm 0,06	(0,85) ^a	(1,10) ^e
Lipídeos (g.100g ⁻¹)	0,30 \pm 0,08	(0,59) ^a	(0,40) ^e
Fibra Bruta (g.100g ⁻¹)	2,65 \pm 0,39		
Aw	0,98 \pm 0,01	(0,97) ^a	(0,99) ^c
pH	4,87 \pm 0,01	(4,11) ^a ; (4,48) ^g	(3,6) ^h
Vitamina C (mg ácido ascórbico.100g ⁻¹ fruta)	26,17 \pm 3,46	(25,00) ^a ; (26,97) ^g	(151,33) ^c ; (20,00) ⁱ ; (43,3) ^j ; (25,55) ^k
Acidez total titulável (ATT) (mg ácido cítrico. 100g ⁻¹ fruta)	0,40 \pm 0,01	(0,68) ^a	(1,51) ^c ; (2,05) ^f
Sólidos solúveis (SS) (° Brix)	8,80 \pm 0,29	(12,0) ^a	(12,88) ^c ; (13,48) ^f
Ratio (SS/ATT)	25,14		
Açúcar solúvel total (mg.100g ⁻¹)	8,00 \pm 4,53	(6,45) ^a ; (9,55) ^g	(2,78) ^l
Açúcar redutor (mg.100g ⁻¹)	3,98 \pm 0,02	(4,12) ^a ; (3,90) ^g	(2,29) ^l
Amido (mg.100g ⁻¹)	0,46 \pm 0,01		

Nota: a - Oliveira *et al.*, (2011); b- Ramadan; Moersel, (2007); c- Licodiedoff; Koslowski; Ribani, (2013); d- Zhang *et al.*, (2013); e- Mendoza; Rodríguez; Millán, (2012); f- Arango; Rodríguez; Campuzano, (2010); g- Bolzan, (2013); h- Castro; Rodriguez; Vargas, (2008); i- Gutiérrez *et al.*, (2007); j- Carrasco; Zelada, (2008); k- Barp et al., (2012); l. Rutz et al., (2012).

* Valores em base seca

O valor do pH (4,87) foi similar ao descrito por Oliveira *et al.* (2011) e Bolzan (2013) e superior ao valor descrito por Castro; Rodríguez; Vargas (2008) (TABELA 1).

Quanto ao teor de Vitamina C (26,17 mg.100 g⁻¹), o fruto apresentou valor similar a *P. angulata* segundo Bolzan (2013) e Oliveira *et al.* (2011), inferior ao valor encontrado em *P. peruviana* por Gutiérrez *et al.* (2007); Carrasco; Zelada (2008); Barp *et al.* (2012); Licodiedoff; Koslowski; Ribani (2013) (TABELA 1). As variações encontradas no teor de Vitamina C entre as variedades de *P. angulata* e *P. peruviana* podem estar relacionadas a diversos fatores como diferenças genótípicas, tipo de solo, condições climáticas, grau de maturação, métodos de colheita, procedimento de manuseio e condições de armazenamento pós-colheita (LEE; KADER, 2000). Os teores de açúcar solúvel total e redutor (8,0 e 3,98 g.100g⁻¹) obtidos assemelham-se aos valores de outros autores também reportados na TABELA 1. Segundo Galvis *et al.* (2005), sacarose, glucose e frutose são os principais açúcares solúveis encontrados nos frutos de *P. peruviana*, podendo estar presentes na forma livre ou combinada, sendo um dos principais responsáveis, pelo sabor doce dos frutos (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

3.2. OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS POLISSACARÍDEOS

Após o tratamento com etanol, a polpa dos frutos de *P. angulata* livre de compostos de baixa massa, foi submetida a extrações sequenciais para a extração de polissacarídeos pécicos e hemiceluloses. Os rendimentos em relação ao resíduo insolúvel em álcool (AIR) e a composição monossacarídica das frações obtidas nas extrações sequenciais dos frutos de *P. angulata* estão indicados na TABELA 2. As extrações sequenciais do AIR apresentaram rendimentos entre 1,1 a 6,5 g.100g⁻¹. A fração W, extraída com água, apresentou o maior rendimento (6,5 g.100g⁻¹), seguida da fração 2M (6,2 g.100g⁻¹), extraída com NaOH 2M, enquanto a fração extraída com ácido cítrico (CA) apresentou o menor rendimento (1,1 g.100g⁻¹).

O rendimento da fração solúvel em água do fruto de *P. angulata* (TABELA 2) foi superior ao encontrado para a casca do maracujá amarelo (2,9 g.100g⁻¹) (YAPO; KOFFI, 2006) e frutos de cambuí (4,1 g.100g⁻¹) (VRIESMANN *et al.*, 2004) e araçá (3,8 g.100g⁻¹) (VRIESMANN *et al.*, 2009a).

O rendimento da fração ED foi superior ao obtido para frações extraídas com EDTA obtidas de frutos de araçá (1,0 %) e cambuí (2,3 g.100g⁻¹) (VRIESMANN *et al.* 2004: 2009b).

A fração CA apresentou rendimento inferior ao relatado por Santos *et al.* (2010) para frações extraídas da polpa de gabioba com ácido cítrico 0,5 % e 5 % a 100 °C, 3,1 g.100g⁻¹ e 2,1 g.100g⁻¹, respectivamente.

As frações alcalinas apresentaram rendimentos superiores aos descritos por Vriesmann *et al.* (2004, 2009b) para frutos de araçá (0,6 g.100g⁻¹) e cambuí (1,6 g.100g⁻¹).

TABELA 2 – RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO MONOSSACARÍDICA* DAS FRAÇÕES OBTIDAS DOS FRUTOS DE *P. angulata*.

Fração	Rendimento (g.100g ⁻¹)	Rha	Fuc	Ara	Xyl (%)	Man	Gal	Glc	AU
W	6,5	2,9	0,1	20,0	7,1	2,2	15,8	7,6	44,1
ED	3,8	3,8	0,2	26,4	9,4	1,0	14,7	1,7	42,8
CA	1,1	0,3	0,1	39,6	23,4	7,8	14,3	3,0	11,5
2M	6,2	0,6	nd	16,9	53,9	5,1	9,0	5,7	9,4
6M	3,1	0,7	0,1	16,5	55,6	6,2	9,2	5,9	5,9

nd = não detectado; AU = ácidos urônicos. Nota: Fração W = fração polissacarídica extraída com água; Fração ED = fração polissacarídica extraída com EDTA 2 %; Fração CA = fração polissacarídica extraída com ácido cítrico 2 %; Fração 2M = fração polissacarídica extraída com NaOH 2 mol.L⁻¹; Fração 6M = fração polissacarídica extraída com NaOH 6 mol.L⁻¹;

*Açúcares neutros foram determinados por GLC (Rha = ramnose; Fuc = fucose; Ara = arabinose; Xyl = xilose; Man = manose; Gal = galactose; Glc = glucose) Ácidos urônicos foram determinados por método colorimétrico.

Os altos teores de ácidos urônicos observados para as frações polissacarídicas extraídas com água (W) e EDTA (ED) indicam que estas frações são constituídas por pectinas. A presença de ramnose e elevado conteúdo de arabinose e galactose nas frações W e ED também corrobora a presença de polissacarídeos pécticos. Segundo Voragen (1995), frações pécticas são geralmente caracterizadas pelo predomínio de ácido galacturônico (principal constituinte da cadeia principal) e dos monossacarídeos neutros ramnose, arabinose e galactose, responsáveis pelas ramificações. Resultados similares foram encontrados por Marcon (2004), que detectou elevados conteúdos de arabinose e galactose em todas as frações pécticas obtidas de farinha de bagaço de maçã.

De acordo com a classificação proposta por Schols; Voragen (1996), a região RG-I pode apresentar razão Rha/GalA entre 0,05 e 1. As razões Rha/GalA para as frações W e ED foram de 0,06 e 0,09, respectivamente. Estas baixas razões sugerem que estas frações poderiam consistir principalmente de regiões lisas (HG) (McCANN; ROBERTS, 1991; SCHOLS; VORAGEN, 1996). A razão molar de Rha/(Ara+Gal) sugere que as frações W (0,08) e ED (0,09) são pouco ramificadas, uma vez que esta razão é um indicativo do grau de ramificação de cadeias laterais.

A fração CA, obtida com ácido cítrico, apresentou menor conteúdo de açúcares ácidos, indicando que além de pectinas outros componentes da parede celular foram extraídos. A fração CA apresentou arabinose como constituinte principal (39,6 %), seguido de xilose (23,4%) e galactose (14,3 %), sugerindo a extração de arabinoxilanas e arabinogalactanas.

As frações hemicelulósicas, 2M e 6M apresentaram xilose como componente majoritário (53,9 % e 55,6 %, respectivamente) indicando a presença de xilanas. Resultados similares foram encontrados por Aboughe-Angone *et al.* (2008) para frutos de *Argania spinosa* nas frações alcalinas obtidas com NaOH 1M e 4M (39 e 29 %); Vriesman *et al.* (2009) em frutos de araçá na fração alcalina obtida com KOH 2M (69 %) e Santos *et al.* (2010) em polpa de gabioba na fração alcalina obtida com NaOH 2M (17 %).

As frações polissacarídicas obtidas dos frutos de *P. angulata* por extrações sequenciais foram analisadas por cromatografia de exclusão estérica (HPSEC) acoplada a detectores de índice de refração (RI), que fornece um sinal proporcional à concentração do polímero e detector de espalhamento de luz laser multiângulos (MALLS), que depende principalmente da massa molecular. O perfil de eluição das frações está apresentado na FIGURA 3.

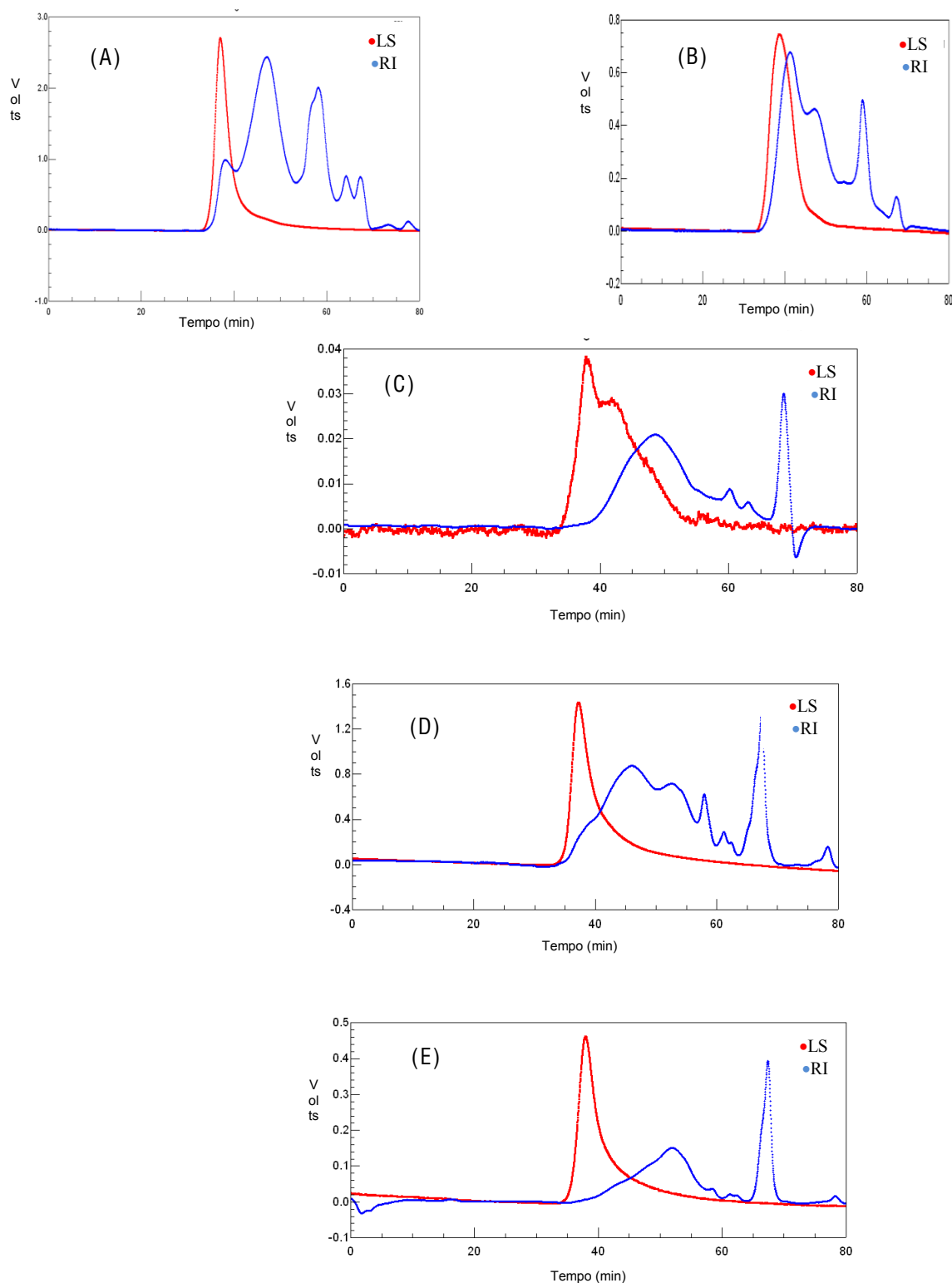


FIGURA 3 – PERFIL DE ELUIÇÃO POR HPSEC-MALLS DAS FRAÇÕES W(A); ED(B); CA(C); 2M (D) E 6M (E) OBTIDAS DOS FRUTOS DE *P. angulata*. LS, DETECTOR DE ESPALHAMENTO DE LUZ A 90° E RI, DETECTOR DE ÍNDICE DE REFRAÇÃO.

Todas as frações apresentam um perfil de eluição polimodal sugerindo a presença de uma mistura de polissacarídeos. Na fração W (FIGURA 3-A), observa-se um pico eluindo em

torno de 37 min detectado pelo espalhamento de luz, que coincide com um pico no índice de refração, indicando que se trata de um componente de elevada massa molecular. Picos detectados somente pelo índice de refração são observados em torno de 46 min e 58 min.

O principal componente da ED (FIGURA 3-B), eluiu em torno de 40 min, sendo detectado simultaneamente pelo índice de refração e espalhamento de luz, indicando que se trata de uma molécula de alta massa molar. Também foi observada a presença de compostos de menor massa molar, detectados somente pelo índice de refração, eluindo em torno de 46 min e 60 min.

Na fração CA (FIGURA 3-C) observa-se o predomínio de um pico em torno de 50 min, também detectado pelo espalhamento de luz.

Dalonso (2010), Camlofski (2008), Vriesmann (2008), Pinheiro (2007), Santos (2006) e Fertoni (2006) também obtiveram frações heterogêneas para pectinas de semente de guaraná, polpa da cereja, polpa de cupuaçu, casca de maracujá amarelo, polpa de araçá vermelho e bagaço de maçã, respectivamente, demonstrando que dificilmente se obtém uma pectina pura.

Nas frações alcalinas (FIGURA 3-D e 3-E) os componentes de maior massa molar (detectados simultaneamente pelo índice de refração e espalhamento de luz) estão presentes em menor proporção. As frações 2M e 6M apresentam principalmente componentes de menor massa molar, detectados somente pelo índice de refração.

O grau de esterificação das pectinas é influenciado pelo solvente e pelas condições de extração utilizadas (WAI; ALKARKHI; EASA, 2010; EMAGA *et al.*, 2008). Para determinar o grau de esterificação das pectinas presentes nas frações W, ED e CA, as amostras foram analisadas por espectroscopia de infravermelho (FT-IR), conforme a FIGURA 4. Foram observados sinais nas regiões entre 3000 a 3600 cm^{-1} correspondendo aos grupos O-H, 2800 a 3000 cm^{-1} indicando a presença de C-H e sinais próximos a 1600-1760 cm^{-1} onde estão localizadas as bandas dos grupos carboxílicos livres e esterificados (KAMNEV *et al.*, 1998). O grau de esterificação das frações pecticas (TABELA 2) foi calculado a partir das áreas das bandas de absorção correspondentes às carboxilas esterificadas entre 1739 cm^{-1} a 1747 cm^{-1} e carboxilas livres entre 1618 cm^{-1} a 1629 cm^{-1} (MONSOOR; KALAPATHY; PROCTOR, 2001).

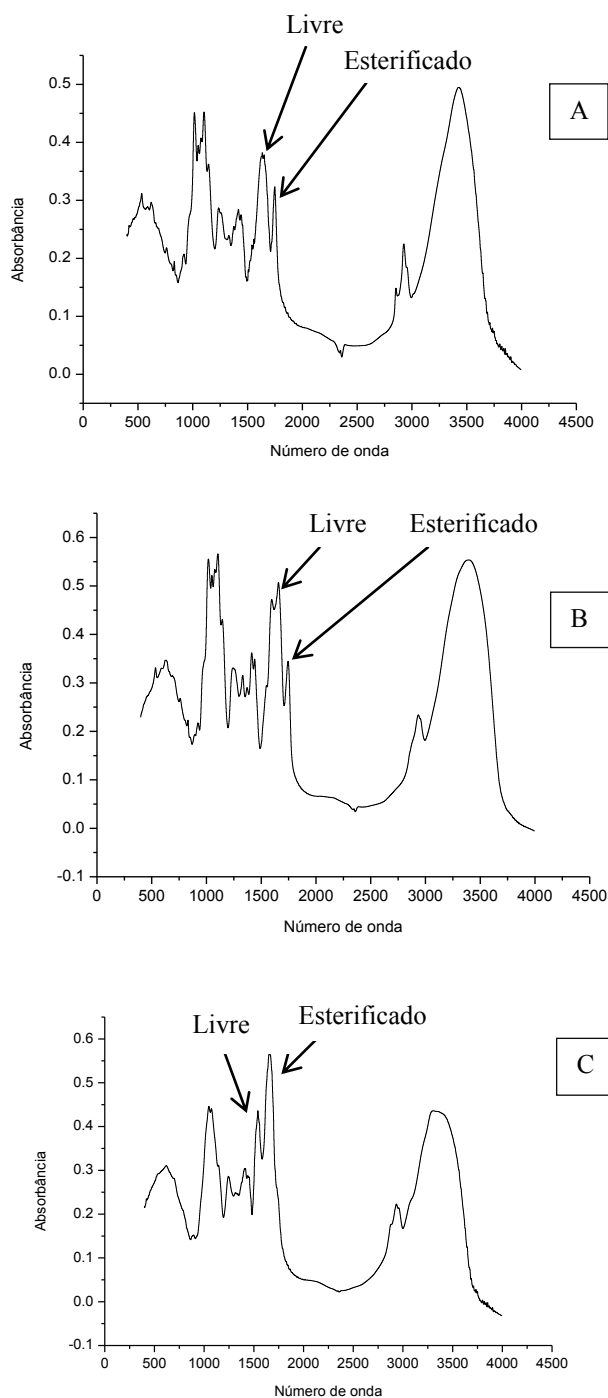


FIGURA 4 – ESPECTRO DE INFRAVERMELHO (FT-IR) DAS FRAÇÕES PÉCTICAS W (A); ED (B); CA (C) OBTIDAS DOS FRUTOS DE *P. angulata*

Observa-se na TABELA 3 um aumento no grau de esterificação das frações de acordo com o tratamento utilizado. As frações W e ED apresentaram baixo grau de esterificação (LM) (34,5 % e 44,7 % respectivamente), sugerindo que estas frações foram extraídas da lamela média, sendo de fácil extração. Por outro lado, a fração CA, extraída com ácido cítrico 2 %, apresentou alto grau de esterificação (HM) (63,3 %), sugerindo pectinas da parede

celular primária. Resultados similares foram encontrados por Santos *et al.* (2009) em frutos de gabirola, em que as pectinas extraídas com água apresentaram baixo grau de esterificação (32,2 %) e as extraídas com ácido cítrico 5 % apresentaram alto grau de esterificação (62,4 %). Muhammad *et al.* (2014); Pinheiro *et al.* (2008) e Canteri-Schemin *et al.* (2005), obtiveram pectina de alto grau de esterificação em amostras de casca de pitaya (63,7 %), casca de maracujá amarelo (78,6 %) e bagaço de maçã (68,8 %) utilizando ácido cítrico em concentrações de 0,086 a 6,2 g.100g⁻¹ como solvente extrator.

TABELA 3 – GRAU DE ESTERIFICAÇÃO DAS FRAÇÕES PÉCTICAS (W, ED e CA) OBTIDAS DOS FRUTOS DE *Physalis angulata* L.

Frações	*Grau de esterificação (DE)
W	34,5
ED	44,7
CA	63,3

* Valores em porcentagem (%)

Nota: Fração W = fração polissacarídica extraída com água; Fração ED = fração polissacarídica extraída com EDTA 2 %; Fração CA = fração polissacarídica extraída com ácido cítrico 2 %;

As frações pécticas foram analisadas por ¹³C-RMN. O espectro da fração W está mostrado na FIGURA 5. A presença de ácido α -D-galacturônico na fração W foi evidenciada pelos sinais em 102,2 e 100,2 ppm, que correspondem ao C-1 de unidades esterificadas e não esterificadas, respectivamente. Em 170,4 e 174,6 ppm foram encontrados os sinais correspondentes aos grupos carboxílicos metil-esterificados e livres, respectivamente. Em 52,8 ppm pode ser visualizado o sinal correspondente aos grupamentos metil-éster das carboxilas esterificadas.

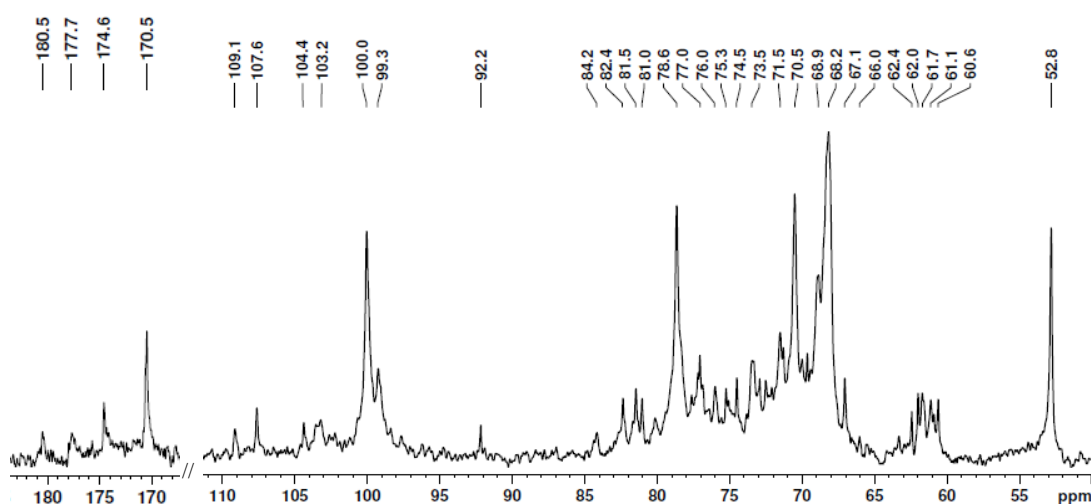


FIGURA 5 – ESPECTRO DE RMN DE ¹³C DA FRAÇÃO W EM D₂O A 70 °C.

O sinal em 99,2 ppm pode ser atribuído ao C-1 de unidades de α -L-ramnose e o sinal em 16,8 ppm ao C do grupo CH_3 .

Na região do C anomérico também são identificados sinais característicos de α -L-arabino furanose em 109,1 e 107,1 ppm e o sinal em 104,4 ppm atribuído a unidades β -D-galactose.

Os assinalamentos foram feitos em comparação com a literatura (WESTERENG *et al.*, 2008; TAMAKI *et al.*, 2008; COZZOLINO *et al.*, 2006; WESTERENG *et al.*, 2006) e indicam a presença homogalacturonana e ramnogalacturonana ramificada por arabinose e galactose na fração W.

O espectro de ^{13}C -RMN obtido para as frações ED e CA (FIGURAS 6 e 7) apresentam sinais semelhantes aos observados para a fração W, sugerindo que estas frações também contêm pectinas ramificadas.

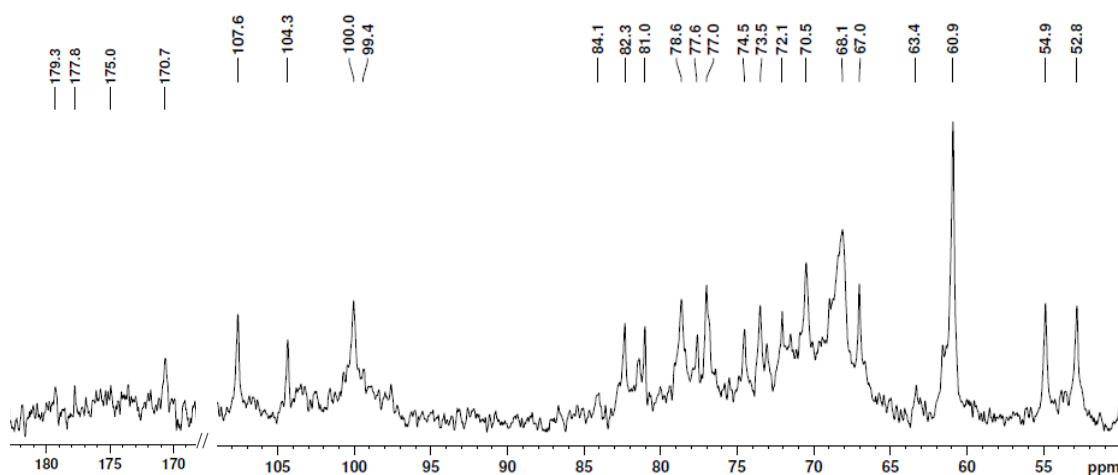


FIGURA 6 – ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DA FRAÇÃO ED EM D_2O A 70 °C.

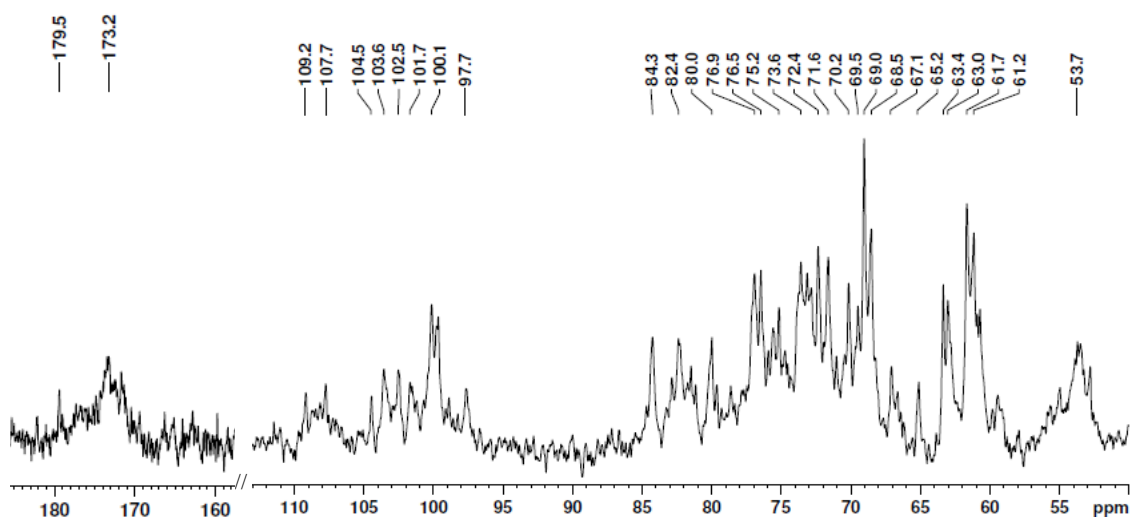


FIGURA 7 – ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DA FRAÇÃO CA EM D_2O A 70 °C.

3.3. ANÁLISES REOLÓGICAS DAS FRAÇÕES PÉCTICAS

As curvas de viscosidade de soluções aquosas na concentração de 5 g.100g^{-1} das frações W, ED e CA estão apresentadas na FIGURA 8, 9 e 10. Pode-se observar que as três frações apresentaram o mesmo comportamento, indicando decréscimo na viscosidade com um aumento da taxa de cisalhamento, caracterizando um comportamento não-Newtoniano do tipo pseudoplástico. Vriesmann; Amboni; Petkowicz (2011); Min *et al.* (2011); Evageliou; Ptitchkina; Morris (2005) e Haminiuk *et al.*, (2006); também observaram um comportamento pseudoplástico na mesma concentração do presente estudo, para pectinas extraídas de cascas de cacau, bagaço de maçã, polpa de abóbora e em polpa de araçá respectivamente.

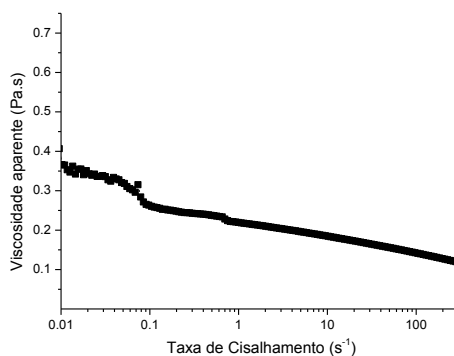


FIGURA 8 – CURVA DE VISCOSIDADE APARENTE A 25 °C DA FRAÇÃO W SOLUBILIZADA EM ÁGUA DEIONIZADA A UMA CONCENTRAÇÃO DE 5 g.100g^{-1} .

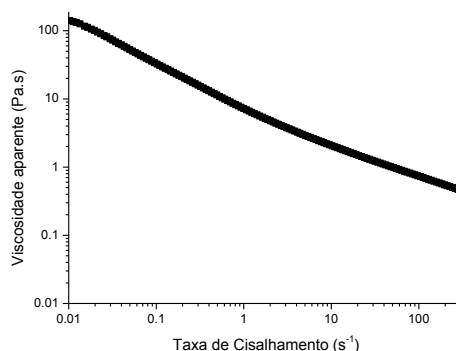


FIGURA 9 – CURVA DE VISCOSIDADE APARENTE A 25 °C DA FRAÇÃO ED SOLUBILIZADA EM ÁGUA DEIONIZADA A UMA CONCENTRAÇÃO DE 5 g.100g^{-1} .

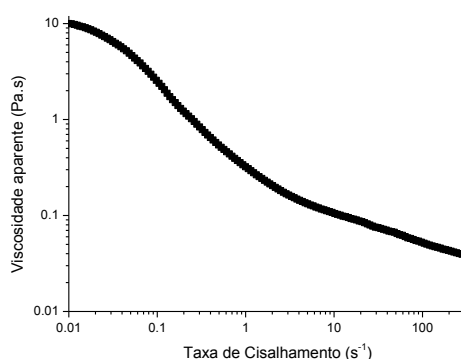


FIGURA 10 – CURVA DE VISCOSIDADE APARENTE A 25 °C DA FRAÇÃO CA SOLUBILIZADA EM ÁGUA DEIONIZADA A UMA CONCENTRAÇÃO DE 5 g.100g⁻¹.

A TABELA 4 apresenta os valores de viscosidade aparente das três frações de pectinas analisadas em três taxas de cisalhamento (0,1; 1 e 10 s⁻¹). A fração W apresentou os menores valores de viscosidades, enquanto que a fração ED apresentou os maiores valores de viscosidade em todas as taxas de cisalhamento. A viscosidade aparente da fração ED na taxa de cisalhamento de 0,1 s⁻¹ foi superior a observada para uma fração péctica extraída com ácido cítrico da casca dos frutos de cacau (viscosidade aparente 7 Pa.s na taxa de cisalhamento de 0,1 s⁻¹) (Vriesmann *et al.*, 2011). Min *et al.* (2011) obtiveram valores de viscosidade inferiores a 1 Pa.s na taxa de cisalhamento de 1 s⁻¹ para duas frações de pectinas obtidas do bagaço de maçã na concentração de 5 %.

TABELA 4 - VISCOSIDADE APARENTE DAS TRÊS FRAÇÕES OBTIDAS EM DIFERENTES TAXAS DE CISALHAMENTO

	Viscosidade aparente (Pa.s) em diferentes taxas de cisalhamento		
	0,1 s ⁻¹	1 s ⁻¹	10 s ⁻¹
Fração W	0,24	0,21	0,18
Fração ED	32,42	6,92	2,05
Fração CA	2,38	0,31	0,10

Nota: Fração W = fração polissacarídica extraída com água; Fração ED = fração polissacarídica extraída com EDTA 2 %; Fração CA = fração polissacarídica extraída com ácido cítrico 2 %;

As frações de pectinas (W, ED, CA), extraídas do fruto de *P. angulata* solubilizadas em água deionizada a uma concentração de 5 g.100g⁻¹ foram avaliadas por análises oscilatórias dinâmicas. Estas análises fornecem informações sobre o comportamento viscoelástico das amostras, a partir dos valores do módulo elástico ou de armazenamento (G') e do módulo viscoso ou de perda (G''), relacionados ao carácter sólido e líquido, respectivamente (SCHRAMM, 2006).

As varreduras de frequência das frações W, ED e CA estão demonstradas nas FIGURAS 11, 12 e 13 respectivamente.

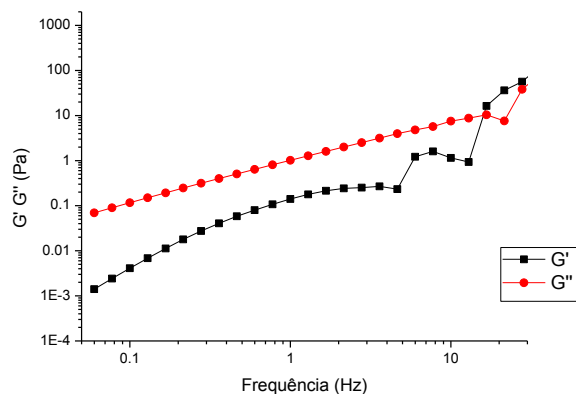


FIGURA 11– VARREDURA DE FREQUÊNCIA A 25 °C DA FRAÇÃO W SOLUBILIZADA EM ÁGUA DEIONIZADA A UMA CONCENTRAÇÃO DE 5 g.100g⁻¹.

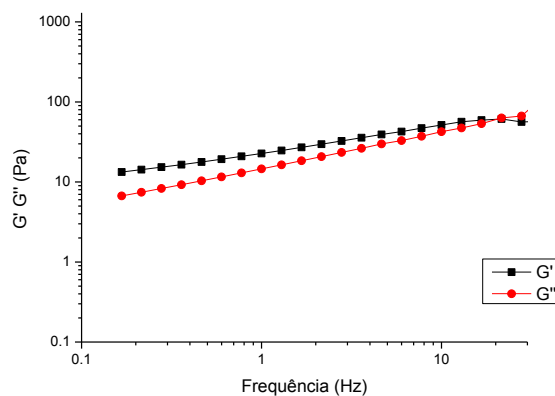


FIGURA 12 – VARREDURA DE FREQUÊNCIA A 25 °C DA FRAÇÃO ED SOLUBILIZADA EM ÁGUA DEIONIZADA A UMA CONCENTRAÇÃO DE 5 g.100g⁻¹.

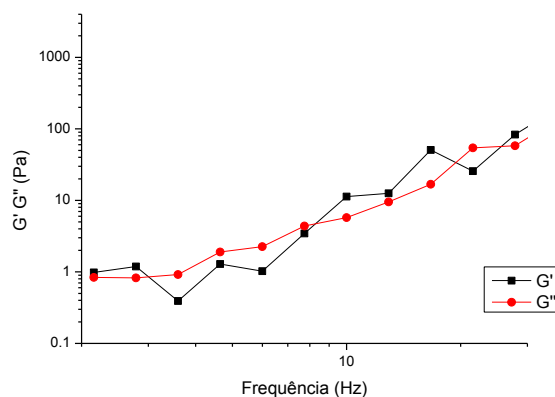


FIGURA 13 – VARREDURA DE FREQUÊNCIA A 25 °C DA FRAÇÃO CA SOLUBILIZADA EM ÁGUA DEIONIZADA A UMA CONCENTRAÇÃO DE 5 g.100g⁻¹.

Para a fração W (FIGURA 11) o módulo viscoso (G'') foi superior ao módulo elástico (G'), na faixa de frequência analisada, mostrando predomínio do caráter líquido e o valor de ambos os módulos aumentou proporcionalmente com aumentos da frequência. Resultados similares foram obtidos por Min *et al.* (2011) para amostras de pectinas de bagaço de maçã na concentração de 5 %.

A fração ED (FIGURA 12) apresentou predomínio do comportamento elástico, com valores de módulo de armazenamento (G') superior aos valores do módulo de perda (G''). A fração ED apresentou inversão de comportamento viscoelástico (*crossover*) na frequência de 11 Hz. Vriesmann; Amboni; Petkowicz (2011) observaram este mesmo comportamento para pectinas da casca de frutos de cacau obtidas por extração aquosa a 50°C quando analisadas na concentração de 5 g.100g⁻¹. Entretanto, a pectina obtida da casca dos frutos de cacau apresentou *crossover* na frequência de 1 Hz.

Aparentemente a fração CA (FIGURA 13) mostrou-se sensível a variação de frequência, sofrendo perturbações em toda a faixa de frequência analisada.

4. CONCLUSÕES

A partir dos frutos de *Physalis angulata* foram obtidas frações contendo pectinas e hemiceluloses. A composição monossacarídica das frações de hemiceluloses indicou a presença de xilanas, arabinoxilanas e arabinogalactanas. A presença de pectinas foi confirmada pela análise de espectroscopia de ¹³C-RMN. Entre as frações pécticas, aquelas obtidas por extração com água (W) e soluções aquosas de EDTA (ED) apresentaram os maiores conteúdos de ácidos urônicos. A fração obtida com ácido cítrico (CA) apresentou predomínio de monossacarídeos neutros. De acordo com o grau de metil esterificação, as pectinas presentes nas frações W e ED foram caracterizadas como LM e as da fração CA como HM. As análises reológicas das frações pécticas solubilizadas em água na concentração de 5 g.100g⁻¹ mostraram um comportamento de fluxo do tipo pseudoplástico e a fração ED apresentou viscosidade aparente superior às demais frações em todas as taxas de cisalhamento. As análises oscilatórias dinâmicas mostraram predomínio do caráter líquido para a fração W, caráter sólido para a fração ED com *crossover* na frequência de 11Hz. A fração CA mostrou-se sensível a variação de frequência, sofrendo perturbações em toda a faixa de frequência analisada.

5. REFERÊNCIAS

- ABOUGHE-ANGONE, S.; NQUEMA-ONA, E.; GHOSH, P.; LEROUGE, P.; ISHII, T.; RAY, B.; DRIOUICH, A. Cell wall carbohydrates from fruit pulp of *Arganiaspinosa*: structural analysis of pectin and xyloglucan polysaccharides. *Carbohydrate Research*, v. 343, p. 67-72, 2008.
- ALBERSHEIM, P. *et al.* An hypothesis: the same six polysaccharides are components of the primary cell walls of all higher plants. In: VISSER, J.; VORAGEN, A. G. J. (Eds.). *Progress in Biotechnology: Pectins and Pectinases*. Amsterdam: Elsevier, v. 14, p. 47-55, 1996.
- ARANGO, Z. T. M.; RODRÍGUEZ, M. C.; CAMPUZANO, O. I. M. Frutos de Uchuva (*Physalis peruviana* L.) Ecotipo ‘Colombia’ Minimamente Processados, Adicionados com Microorganismos Probióticos utilizando la Ingeniería de Matrices. *Revista Facultad Nacional de Agronomía*. Medellín, v. 63, p. 5395-5407, 2010.
- ADAMS, G. A. Complete acid hydrolysis. *Methods in Carbohydrates Chemistry*, v. 5, p. 269-276, 1965.
- AI-RUQAIE, I. M.; KASAPIS, S.; ABEYSEKERA. Structural properties of pectin-gelatin gels. Part II: effect of sucrose/glucose syrup. *Carbohydrate Polymers*, v. 34, p. 309, 1997.
- ALVARADO, P. A., BERDUGO, C. A., FISHER, G. Efecto de um tratamento a 1,5 °C y dos humedades relativas sobre las características físico-químicas de fruto de uchuva *Physalis peruviana* L. durante el posterior transporte y almacenamiento. *Agronomía Colombiana*, Bogotá, v. 22 n. 2, p. 147-159, 2004.
- ASPINALL, G. O. Pectins, plants gums, and other plant polysaccharidesin. *The Carbohydrates Chemistry and Biochemistry*. V. Pigman & D Horton (ed.). New York: Academic Press. v. 2b, p. 515, 1970.
- AOAC. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 17th ed. Gaithersburg, 2000.
- BARP, F. K.; VILLA, F.; SILVA, D. F.; STUMM, R.; PIVA, A. L. Caracterização físico-química de frutos de fisalis cultivados no Sul de Minas Gerais. XXII Congresso Brasileiro de Fruticultura. Resumo expandido. Bento Gonçalves-RS, 2012.
- BASTOS, G. N. T.; SANTOS, A. R. S.; FERREIRA, A. M. R.; COSTA, C. I.; BISPO, C. I.; SILVEIRA, A. J. A.; NASCIMENTO, J. L. M. Antinociceptive effect of the aqueous extract obtained from roots of *Physalis angulata* L. on mice. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 103, p. 241–245, 2006.
- BLUMENKRANTZ, N.; ASBOE-HANSEN, G. New method for quantitative determination of uronic acids. *Analytical Biochemistry*, v. 54, p. 484-489, 1973.
- BOLZAN, R. Conservação pós-colheita e caracterização de frutos de *Physalis* (*Physalis angulata* L.) produzidos na região metropolitana de Curitiba-Paraná. 119p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal do Paraná – Curitiba/PR, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos. Brasília: Ministério da Saúde, Ed. IV. Série A. Normas e Manuais Técnicos – Instituto Adolfo Lutz, p. 1018, 2005.

CABRAL, M. F. P.; QUEIROZ, A. J. M.; FIGUERÊDO, R. M. F. Comportamento reológico da polpa de Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum.) peneirada. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v.4, n.1, p.37-40, 2002.

CAMLOFSKI, A. M. O. Caracterização do fruto de cerejeira (*Eugenia involucrata* DC) visando seu aproveitamento tecnológico. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2008.

CANTERI-SCHEMIN, M. H., FERTONANI, H. C. R., WASZCZYNSKYJ, N., WOSIACKI, G. Extraction of pectin from Apple pomace. Brazilian Archives of Biology and Technology, v. 48, p. 259–266, 2005.

CARRASCO, R. R.; ZELADA, C. R. E. Determinación de la capacidade antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas. Revista de la Sociedad Química del Perú. v. 74, n. 2, p.108-124, 2008.

CÁRDENAS, A.; GOYCOOLEA, F. M.; RINAUDO, M. On the gelling behaviour of “nopal” (*Opuntia ficus indica*) low methoxyl pectin. Carbohydrate Polymers, v. 73, p. 212-222, 2008.

CARPITA, N.; MCCANN, M. The Cell Wall. In: Buchanan, B. B.; Gruissem, W.; Jones, R. L. (Ed.) Biochemistry & Molecular Biology of Plants. American Society of Plant Physiologists, Rockville, Maryland: Couries Companies, p. 52-89, 2000.

CARVALHO, V. D. de. Qualidade e conservação pós-colheita de goiabas. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v.17, n. 179, p. 48-54, 1994.

CASTRO, A. M., RODRÍGUEZ, L., VARGAS, E. M. Secado de Uchuva (*Physalis peruviana* L.) por aire caliente com pretratamiento de osmodeshidratación. VITAE – Revista de la Facultad de Química Farmacéutica. v. 5, p. 226-231, 2008.

CHEN, L. X.; XIA, G. Y.; LIU, Q. Y.; XIE, Y. Y.; QIU, F. Chemical constituents from the calyces of *Physalis alkekengi* var. franchetii. Biochemical Systematics and Ecology, v. 54, p. 31–35, 2014.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. Pós-colheita de frutas e hortaliça: Fisiologia e Manuseio, 2. ed. Lavras: UFLA, 783p., 2005.

CHOI, E. M.; HWANG, J. K.. Investigations of anti-inflammatory and antinociceptive activities of Piper cubeba, *Physalis angulata* and Rosa hybrid. Journal of Ethnopharmacology, v. 89, p. 171–175, 2003.

CORREIA, A. A. S., GONZAGA, M. L. C., AQUINO, A. C., SOUZA, P. H. M., FIGUEIREDO, R. W., MAIA, G. A. Caracterização química e físico-química da polpa do noni (*Morindacitrifolia*) cultivado no estado do Ceará. Alimentos e Nutrição, Araraquara. v. 22, n. 4, out./dez., p. 609-615, 2011.

COZZOLINO, R.; MALVAGNA, P.; SPINA, E.; GIORI, A.; FUZZATI, N.; ANELLI, A.; GAROZZO, D.; IMPALLOMENI, G. Structural analysis of the polysaccharides from *Echinacea angustifolia* radix. Carbohydrate Polymers, v. 65, p. 263-272, 2006.

CUNHA, P. L. R.; PAULA, R. C. M.; FEITOSA, J. P. Polissacarídeos da biodiversidade brasileira: uma oportunidade de transformar conhecimento em valor econômico. Química Nova, v. 32, p. 649-660, 2009.

DALONSO, N. Polissacarídeos das sementes de guaraná (*Paulliniacupana* Kunth): Análises estruturais, reológicas e atividade antioxidante. 110p. Dissertação (Mestrado em Ciências-Bioquímica) – Universidade Federal do Paraná, 2010.

DALONSO, N.; PETKOWICZ, C. L. O. Guarana powder polysaccharides: Characterisation and evaluation of the antioxidant activity of a pectic fraction. Food Chemistry, v.134, p. 1804–1812, 2012.

EMAGA, T. H.; RONKART, S. N.; ROBERT, C.; WATHELET, B.; PAQUOT, M. Characterisation of pectins extracted from banana peels (*Musa AAA*) under different conditions using an experimental design. Food Chemistry, v. 108, p. 463–471, 2008.

EVAGELIOU, V., PTITCHKINA, N. M., MORRIS, E. R. Solution viscosity and structural modification of pumpkin biopectin. Food Hydrocolloids, v. 19, p. 1032–1036, 2005.

FERTONANI, H. C. R. Estabelecimento de um modelo de extração ácida de pectina de bagaço de maçã. 82p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2006.

GALVIS, J. A.; FISCHER, G.; GORDILLO, M. Cosecha e poscosecha de lauchuva. In: Producción, poscosecha y exportación de la uchuva *Physalis peruviana* L. Bogotá, Universidad Nacional de Colombia, Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural y Asociación Hortifrutícola de Colombia. p.165-188, 2005.

GORIN, P. A. J.; MAZUREK, M. Further Studies on the Assignment of Signals in ^{13}C Magnetic Resonance Spectra of Aldoses and Derived Methyl Glycosides. Canadian Journal Chemistry, v. 53, p. 1212-1223, 1975.

GUIMARÃES, E. T., LIMA, M. S., SANTOS, L. A., RIBEIRO, I. M., TOMASSINI, T.B.C.; SANTOS, R.R. DOS., SANTOS, W.L.C. DOS, SOARES, M.B. Effects of seco-steroids purified from *Physalis angulata* L., Solanaceae, on the viability of *Leishmania* sp. Revista Brasileira de Farmacognosia, São Paulo, v. 20, n. 6, p. 945-949, 2010.

GUTIÉRREZ, T. M.; HOYOS, O. L.; PÁEZ, M. I. Determinación del contenido de ácido ascórbico em uchuva (*Physalis peruviana*), por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR). Facultad de Ciencias Agropecuarias, v. 5, n. 1, p.70-79, 2007.

HAMINIUK, C. W. I.; SIERAKOWSKI, M. R.; VIDAL, J. R.M. B.; MASSON, M. L. Influence of temperature on rheological behavior of whole Araçá-pulp (*Psidium cattleianum* sabine). Lebensmittel-Wissenschaft und Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie – Food Science and Technology, Berlin, v. 39, n. 4, p. 427-431, 2006.

HSEU, *et al.* Inhibitory effects of *Physalis angulata* on tumor metastasis and angiogenesis. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 135, p. 762–771, 2011.

HSIEH, W. T.; HUANG, K. Y. ; LIN, H. Y.; CHUNG, J. G.. *Physalis angulata* induced G2/M phase arrest in human breast cancer cells. *Food and Chemical Toxicology*, v. 44, p. 974–983, 2006.

HWANG, J.; KOKINI, J. L. Contribution of the side branches to rheological properties of pectins. *Carbohydrate Polymers*, v. 19, p. 41-50, 1992.

IAL, Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. São Paulo: O Instituto, v. 1, 3. ed., 1985.

KAMNEV, A. A.; COLINA, M.; RODRIGUEZ, J.; PTITCHKINA, M. N.; IGNATOV, V. V. Comparative spectroscopic characterization of different pectins and their sources. *Food Hydrocolloids*, v. 12, [s.n], p. 263-271, 1998.

KIM, Y.; TENG, Q.; WICKER, L. Action pattern of Valencia orange PME de-esterification of high methoxyl pectin and characterization of modified pectins. *Carbohydrate Research*, v. 340, p. 2620-2629, 2005.

KARWOWSKI, M. S. M. Estudo da estabilidade, comportamento reológico e dos compostos fenólicos de frutas da Mata Atlântica. 89p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, 2012.

LICODIEDOFF, S.; KOSLOWSKI, L. A. D.; RIBANI, R. H. Flavonols and antioxidant activity of *Physalis peruviana* L. fruit at two maturity stages. *Acta Scientiarum*, Maringá, v. 35, n. 2, p. 393-399, 2013.

LICODIEDOFF, S. Caracterização físico-química e compostos bioativos em *Physalis peruviana* e derivados. 119p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná – Curitiba/PR, 2012.

LIMA, C. R. DE, COSTA-SILVA, J. H. DA, LYRA, M. M. A., ARAÚJO, A. V., ARRUDA, V. M., DIMECH, G. S., EVÊNCIO, L. B., FRAGA, M. C. C. A., LAFAYETTE, S. S. L., WANDERLEY, A. G. Atividade Cicatrizante e Estudo Toxicológico Pré-clínico do fitoterápico Sanativo®. *Acta Farmacêutica Bonaerense*, Buenos Aires, v. 25, n. 4, p. 544-549, 2006.

LIMA, R. B.; SANTOS, T. B.; VIEIRA, L. G. E.; FERRARESE, M. L. L.; FERRARESE-FILHO, O.; DONATTID, L.; BOEGER, M. R. T.; PETKOWICZ, C. L. O. Salt stress alters the cell wall polysaccharides and anatomy of coffee (*Coffea arabica* L.) leaf cells. *Carbohydrate Polymers*, v. 112, p. 686–694, 2014.

LEE, S. K.; KADER, A. A. Pre-harvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biology and Technology*, v. 20, p. 207-220, 2000.

LOPES, A. S. Pitanga e acerola: estudo de processamento, estabilidade e formulação de néctar misto. 193f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos, 2005.

LUSAKIBANZA, M.; MESIA, G.; TONA, G.; KAREMERE, S.; LUKUKA, A.; TITS, M.; ANGENOT, L.; FRÉDÉRICH, M. In vitro and in vivo antimalarial and cytotoxic activity of five plants used in congolese traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 129, p. 398–402, 2010.

McCANN, M. C; ROBERTS, K. In: *The cytoskeletal basis of plant growth and form*, Academic Press, p. 109-129, 1991.

MAGALHÃES, H. I. F. Atividade antitumoral (*in vitro* e *in vivo*) das fisalinas isoladas de *Physalis angulata* Lin. Dissertação de Mestrado em Farmacologia, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal do Paraná, 101p, 2005.

MAJUMBER, K.; MAZUMDAR, B.C. Changes of pectin substances in developing fruits of cape-gooseberry (*Physalis peruviana* L.) in relation to three enzyme activity and evolution of ethylene. *Scientia Horticulturae*, Amsterdam, v. 96, n. 4, p.91-101, 2002.

MARCON, V. M. 2004, 123f. Extração e Caracterização de Pectinas Obtidas de Farinha de Bagaço de Maçã. Dissertação de Mestrado (Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2004.

MENDOZA, J. H.; ; RODRÍGUEZ DE S. A.; MILLÁN C. P. Caracterización físico química de la Uchuva (*Physalis peruviana*) en la región de Silvia Cauca. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, v. 10, p. 188 - 196, 2012.

MIN, B.; LIMA, J.; KO, S.; LEE, K. G.; LEE, S. H.; LEE, S. Environmentally friendly preparation of pectins from agricultural by products and their structural/rheological characterization. *Bioresource Technology*, v. 102, p. 3855–3860, 2011.

MONSOOR, M. A.; KALAPATHY, U.; PROCTOR, A. Determination to polygalacturonic acid content in pectin extrats by diffuse reflectance Fourier transform infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, v. 74, p. 233-238, 2001.

MUHAMMAD, K.; ZAHARI, N. I. M.; GANNASIN, S. P.; ADZAHAN, N. M.; BAKAR, J. High methoxyl pectin from dragon fruit (*Hylocereuspolyrhizus*) peel. In press. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.03.021>, 2014.

MUNIZ, J., KRETZSCHMAR, A. A., RUFATO, L., PELIZZA, T. R., MARCHI, T., DUARTE, A. E., LIMA, A. P. F., GARANHANI, F. Sistemas de condução para o cultivo de physalis no planalto catarinense. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, 2011.

NASCIMENTO, J. L. M. Uso da Fisalina D e dos extratos etanólico e aquoso na proliferação de células-tronco neurais do giro denteado de camundongos adultos. Uma nova molécula neurogênica. PII1041773, 18 Jul, 2011, 15 Jul 2012.

NOGUEIRA, R. C., ROCHA, V. P. C., NONATO, F. R., TOMASSINI, T. C. B., RIBEIRO, I. M., SANTOS, R. R., SOARES, M. B. P. Genotoxicity and antileishmanial activity

evaluation of *Physalis angulata* concentrated ethanolic extract. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 36, p. 1304–1311, 2013.

OLIVEIRA, J. A. R.; MARTINS, L. H. S.; VASCONCELOS, A. M.; PENA, R. S.; CARVALHO, A. V. Caracterização física, físico-química e potencial tecnológico de frutos de Camapu (*Physalis angulata* L.). *Revista Brasileira de Tecnologia Industrial*, v. 5, n. 2, p. 573-583, 2011.

PAIVA, E. P.; LIMA, M. S.; PAIXÃO, J. A. Pectina: Propriedades químicas e importância sobre a estrutura da parede celular de frutos durante o processo de maturação. *Revista Iberoamericana de Polímero*, v. 10(4), p. 196-211, 2009.

PERRONE, P.; HEWAGE, C. M.; THOMSON, A. R.; BAILEY, K.; SADLER, I. H.; FRY, S. C. Patterns of methyl and O-acetyl esterification in spinach pectins: new complexity. *Phytochemistry*, v. 60, p. 67–77, 2002.

PEIXOTO, N.; PEIXOTO, F. C.; VAZ, U. L.; NERI, S. C. M.; MONTEIRO, J. G. Adubação orgânica e cobertura do solo no crescimento e produção de camapu. *Horticultura Brasileira*, v. 28, p. 370-372, 2010.

PIETRO, R. C. L. R.; KASHIMA, S.; SATO, D. N.; JANUARIO, A. H.; FRANÇA, S. C. In vitro antimycobacterial activities of *Physalis angulata* L. *Phytomedicine*, v. 7, p. 335-338, 2000.

PINHEIRO, E. R. Pectina da casca do maracujá amarelo (*Passiflora edulis flavicarpa*): otimizaçãoda extração com ácido cítrico e caracterizaçãofísico-química. 79f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos)-Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

PINHEIRO, E. R.; SILVA, I. M. D. A.; GONZAGA, L. V.; AMANTE, E. R.; TEOFILO, R. F.; FERREIRA, M. M. C.; AMBONI, R. D. M. C. Optimization of extraction of high-ester pectin from passion fruit peel (*Passiflora edulis flavicarpa*) with citric acid by using response surface methodology. *Bioresource Technology*, v.99, p. 5561–5566, 2008.

RAMADAN, M. F.; MOERSEL. Impact of enzymatic treatment on chemical composition, physicochemical properties and radical scavenging activity of goldenberry (*Physalis peruviana* L.) juice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 87, p. 452–460, 2007.

RUFATO, L.; RUFATO, A. R.; SCHELEMPER, C.; LIMA, C. S. M.; KRETZSCHMAR, A. A. Aspectos técnicos da cultura da physalis. Lages: CAV/UDESC, Pelotas: UFPel. 100p., 2008.

RUTZ, J. K.; VOSS, G. B.; JACQUES, A. C.; PERTUZATTI, P. B. BARCIA, M. T.; ZAMBIAZI, R. C. Caracterização de geleia de *Physalis peruviana* L. *Alimento e Nutrição*, Araraquara, v. 23, n. 3, jul./set, p. 369-375, 2012.

SATO, A. C. K. Influência do tamanho de partículas no comportamento reológico da polpa de jabuticaba. 86p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) UNICAMP, Campinas, 2005.

SANTOS, M. da S. Caracterização físico-química e aproveitamento tecnológico do araçá vermelho (*Psidium cattleianum* S.). 173f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2006.

SANTOS, M. S.; CARNEIRO, P. I. B.; WOSIACKI, G.; PETKOWICZ, C. L. O.; CARNEIRO, E. B. B. Caracterização físico-química, extração e análise de pectinas de frutos de *Campomanesia Xanthocarpa* B. (Gabioba). Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 30, n. 1, p. 101-106, 2009.

SANTOS, M. S.; PETKOWICZ, C. L. O.; HAMINIUK, C. W.; CANDIDO, L. M. B. Estudo das propriedades químicas e reológicas dos polissacarídeos extraídos da Gabioba (*Campomanesia xanthocarpa* Berg). Revista Iberoamericana de Polímeros, v. 11, p. 359-373, 2010.

SCHOLS, H. A.; VORAGEN, A. G. J. Complex pectins: Structure elucidation using enzymes. In: VISSER, J.; VORAGEN, A. G. J. (Eds.), Progress in Biotechnology: Pectins and Pectinases. Amsterdam: Elsevier, v. 14, p. 3-19, 1996.

SCHEPETKIN, I. A.; QUINN, M. T. Botanical polysaccharides: Macrophage immunomodulation and therapeutic potential. International Immunopharmacology, v. 6 p. 317 – 333, 2006.

SCHRAMM, G. Reologia e Reometria: Fundamentos teóricos e práticos. 2. ed. São Paulo: Artliber Editora Ltda., 233p., 2006.

SENGKHAMPARN, N., SAGIS, L.M.C., DE VRIES, R., SCHOLS, H.A., SAJJANANTAKUL, T., VORAGEN, A.G.J. Physicochemical properties of pectins from okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench). Food Hydrocolloids, v. 24, p. 35–41, 2010.

SLONEKER, J. H. Gas-liquid chromatography of alditol acetates. Methods in Carbohydrate Chemistry, v. 6, p. 20-24, 1972.

SOARES, M. B. P.; MOEMA, C. B.; RIBEIRO, I. M.; TOMASSINI, T. C. B.; SANTOS, R. R. Inhibition of macrophage activation and lipopolysaccharide-induced death by steroids purified from *Physalis angulata* L. European Journal of Pharmacology, v. 459, p. 107 – 112, 2003.

SOUZA, V. C., LORENZI, H. Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APGII. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, p. 547-548, 2005.

TACO. Tabela Brasileira de composição de alimentos. 4º ed. Revisada e ampliada. 161p. Campinas: NEPA-Unicamp, 2011. Disponível em: <http://www.unicamp.br/nepa/taco/tabela.php?ativo=tabela>. Acesso em 23 de Março de 2014.

TAMAKI, Y.; KONISHI, T.; FUKUTA, M.; TAKO, M. Isolation and structural characterisation of pectin from endocarp of *Citrus depressa*. Food Chemistry, v. 107, p. 352–361, 2008.

THAKUR, B. R.; SINGH, R. K.; HANDA, A. K. Chemistry and uses of pectin e a reviews. *Critical Reviews in Food Science*, p. 37, 47 e 73, 1997.

TOMASSINI, T. C. B, BARBI, N. S., RIBEIRO, I. M., XAVIER, D. C. D. Gênero *Physalis* – Uma revisão sobre vitaesteróides. *QUÍMICA NOVA*, v. 23, n. 1, p. 47-57, 2000.

VAN BUREN, J. P. The chemistry of texture in fruits and vegetables. *Journal of Texture Studies*, v. 10, p. 1-23, 1979.

VORAGEN, A. G. J.; PILNIK, W.; THIBAUT, J. F.; AXELOS, M. A. V.; RENARD, C. M. G. C. Pectins In: STEPHEN, A. M. (Ed.). *Food polysaccharides and their applications*. New York: Marcel Dekker, p. 287-339, 1995.

VRIESMANN, L. C.; AMBONI, R. D. M. C.; PETKOWICZ, C. L. O. Cacao pod husks (*Theobroma cacao* L.): Composition and hot-water-soluble pectins. *Industrial Crops and Products*, v. 34, p. 1173– 1181, 2011.

VRIESMANN, L. C.; PETKOWICZ, C. L. O.; BORBA, P. I.; BELESKI-CARNEIRO, E. Polissacarídeos de frutos do Cambuí (*Myrciaria Tenella*, Berg). *Publicatio UEPG – Ciências exatas e da terra, agrárias e engenharias*. Ponta Grossa, v. 10(3), p. 41-45, 2004.

VRIESMANN, L. C.; PETKOWICZ, C. L. O.; BORBA, P. I.; COSTA, M. E.; BELESKI-CARNEIRO, E. Acidic Polysaccharides from *Psidium cattleianum* (Araçá). *Brazilian Archives Biology Technology*. v. 52, n. 2: p. 259-264, 2009a.

VRIESMANN, L. C.; PETKOWICZ, C. L. O. Polysaccharides from the pulp of cupuassu (*Theobroma grandiflorum*): structural characterization of a pectic fraction. *Carbohydrate Polymers*, p. 77, 72 e 79, 2009b.

VRIESMANN, L. C. Extração, caracterização e aspectos reológicos de polissacarídeos da polpa dos frutos de *Theobroma grandiflorum* (Cupuaçu). 117p. Dissertação (Mestrado em Ciências-Bioquímica) – Universidade Federal do Paraná, 2008.

VIGNON, M. R.; JALDON-GARCIA, C. Structural features of the pectic polysaccharides isolated from retted hemp bast fibre. *Carbohydrate Research*, v. 296, p. 249-260, 1996.

WAI, W. W.; ALKARKHI, A. F. M.; EASA, A. M. Effect of extraction conditions on yield and degree of esterification of durian rind pectin: An experimental design. *Food and Bioproducts Processing*, p. 209–214, 2010.

WAKABAYASHI, K. Changes in cell wall polysaccharides during fruit ripening. *Journal Plant Research*.v.113, p. 231-237, 2000.

WESTERENG, B.; YOUSIF, O.; MICHAELSEN, T. E.; KNUTSEN, S. H.; SAMUELSEN, A. B. Pectin isolated from white cabbage – structure and complement-fixing activity. *Molecular Nutrition & Food Research*, v. 50, p. 746 – 755, 2006.

WESTERENG, B.; MICHAELSEN, T. E.; SAMUELSEN, A. B.; KNUTSEN, S. H. Effects of extraction conditions on the chemical structure and biological activity of white cabbage pectin. *Carbohydrate Polymers*, v. 72, p. 32–42, 2008.

WOLFRON, M. L.; THOMPSON, A. Acethylation. Methods Carboydrate Chemistry. New York, v. 2, p. 211, 1963a.

WOLFRON, M. L.; THOMPSON, A. Reduction with sodium borohydrate. Methods in Carbohydrate Chemistry, v. 2, p. 65, 1963b.

WU, S. J.; NG, L. T.; CHEN, C. H.; LIN, D. L.; WANG, S. S.; LIN, C. C.. Antihepatoma activity of *Physalis angulata* and *P. peruviana* extracts and their effects on apoptosis in human Hep G2 cells. Life Sciences, v. 74, p. 2061 – 2073, 2004.

YAPO, B. M.; KOFFI, K. L. Yellow Passion Fruit Rind - Potential Source of Low-Methoxyl Pectin. Journal Agricultural Food Chemistry. v. 54, p. 2738–2744, 2006.

ZHANG, Y. J.; DENG, G. F.; XU, X. R.; WU, S.; LI, S.; LI, H. B.. Chemical Components and Bioactivities of Cape Gooseberry (*Physalis peruviana*). International. Journal of Food Nutrition and Safety, v. 3, p. 15-24, 2013.

CONCLUSÕES FINAIS

A proposta desta tese foi a avaliação dos compostos bioativos e polissacarídeos dos frutos de *Physalis angulata* e seus subprodutos. Os resultados demonstraram que os frutos apresentaram níveis significativos de compostos fenólicos e propriedades antioxidantes nos extratos metanólicos durante a maturação. O ácido fenólico predominante foi o ácido ferúlico.

O estudo revelou que os subprodutos podem ser utilizados como matéria-prima para elaboração de chás (cálice), fonte de obtenção de ácidos graxos insaturados e minerais (farinha das sementes), desde que se façam os ensaios biológicos necessários nas amostras. Devido à presença de compostos bioativos e pectinas (fonte de fibras), pode ser considerado um alimento potencialmente funcional e promissor, apesar de ser pouco explorado no Brasil.

Conclui-se que a presente tese apresentou contribuição científica relevante, uma vez que é escassa a bibliografia referente ao fruto nativo estudado.